

Berichte
aus dem
INSTITUT FÜR MEERESKUNDE
an der
Christian-Albrechts-Universität Kiel

Nr. 298

Mikroorganismen als mögliche Indikatoren zur
Beurteilung des Wasser- und Sedimentzustandes im
Bereich küstennaher Zuchtanlagen für die
Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*)

DOI 10.3289/IFM-BER-298

von

Alex William Brown N.

Dissertation an der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen
Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität Kiel

1997

Gedruckt mit Unterstützung des Deutschen Akademischen Austauschdienstes

Kopien dieser Arbeit können bezogen werden:

Institut für Meereskunde an der Universität Kiel
Bibliothek
Düsternbrooker Weg 20
D - 24105 Kiel
Germany

ISSN 0341-8561

Inhalt

1. Einleitung	1
1.1. Umweltmonitoring in der Aquakultur	1
1.2. Stand der Forschung zur Antibiotika-Anwendung und Resistenzbildung	4
1.3. Zielsetzung der Arbeit	6
2. Charakterisierung der Untersuchungsgebiete	9
2.1. Wismarer Bucht	9
2.1.1. Hydrographie und anthropogener Einfluß	9
2.1.2. Die Fischkulturanlage	11
2.2. Ilque Bucht	12
2.2.1. Hydrographie und anthropogener Einfluß	12
2.2.2. Die Fischkulturanlage	13
3. Material und Methoden	15
3.0. In beiden Anlagen eingesetzte Meßverfahren	15
3.0.1. Physikalische und chemische Meßparameter	15
3.0.2. Bakteriologische Untersuchungen	16
3.0.3. Statistische Analyse	18
3.1. Datenerfassung in der Wismarer Bucht	20
3.1.1. Fischproduktion in der Anlage von Wismar	20
3.1.2. Physikalische und chemische Variablen, Benthos	20
3.1.3. Untersuchung zur Bakteriologie des Wassers und des Sediments	21
3.1.3.1. Vorkommen einzelner Bakteriengruppen in der Wismarer Bucht	22
3.1.3.2. Zeitliche Veränderung und Horizontale Verteilung	22
3.1.3.3. Untersuchungen im Vertikalprofil	23
3.1.3.4. Bakteriologische Untersuchung vor und nach der Fütterung	23
3.1.3.5. Änderung der Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaften in unmittelbarer Umgebung der Käfiganlage	24
3.1.3.6. Bakteriologische Charakterisierung der Bucht	25
3.1.3.7. Antibiotikaresistenz	26
3.2. Datenerfassung in der Ilque Bucht, Chile	27
3.2.1. Fischproduktion in der Ilque - Anlage	27
3.2.2. Physikalische und chemische Meßparameter	27
3.2.3. Untersuchung zur Bakteriologie des Wassers und des Sediments	29
3.2.3.1. Vorkommen einzelner Bakteriengruppen in der Ilque-Bucht	29
3.2.3.2. Zeitliche Veränderung	29
3.2.3.3. Untersuchungen im Oberflächenbereich	29
3.2.3.4. Untersuchungen im Vertikalprofil	29
3.2.3.5. Antibiotikaresistenz	29
3.3. Datenerfassung zur Feststellung der Quelle erhöhter Bakterienkonzentrationen nach der Fütterung in der Kieler Förde	31
4. Ergebnisse	33
4.1. Wismarer Bucht	33
4.1.1. Fischproduktion in der Anlage von Wismar	33

4.1.2. Physikalische und chemische Variablen, Benthos	35
4.1.3. Untersuchung zur Bakteriologie des Wassers und des Sediments	47
4.1.3.1. Vorkommen einzelner Bakteriengruppen in der Wismarer Bucht	47
4.1.3.2. Zeitliche Veränderungen und Horizontale Verteilung	57
4.1.3.3. Untersuchungen im Vertikalprofil	73
4.1.3.4. Bakteriologische Untersuchungen vor und nach der Fütterung	77
4.1.3.5. Änderung der Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaften in unmittelbarer Umgebung der Käfiganlage	82
4.1.3.6. Bakteriologische Charakterisierung der Bucht	86
4.1.3.7. Antibiotikaresistenz in der Wismarer Bucht	91
4.2. Ilque Bucht	95
4.2.1. Fischproduktion in der Anlage von Ilque	95
4.2.2. Physikalische und chemische Meßparameter	97
4.2.3. Untersuchung zur Bakteriologie des Wassers und des Sediments	105
4.2.3.1. Vorkommen einzelner Bakteriengruppen in der Ilque-Bucht	105
4.2.3.2. Zeitliche Veränderungen	107
4.2.3.3. Untersuchungen im Oberflächenbereich	117
4.2.3.4. Untersuchungen im Vertikalprofil	123
4.2.3.5. Antibiotikaresistenz in der Ilque-Bucht	129
4.3. Untersuchung zum Eintrag von Bakterien in die Wassersäule durch Ablösung von Netzmaterialien in der Kieler Förde	133
5. Diskussion	135
Allgemeiner Hintergrund	135
Charakterisierung des Anlagezustandes	135
5.1 Das Produktionsmanagement	135
5.2 Physikochemische Charakterisierung, Benthos	136
5.3 Die mikrobiologischen Untersuchungen	139
5.3.1 Identifizierung der isolierten Bakterien	140
5.3.2 Zeitliche und horizontale Veränderungen	141
5.3.3 Untersuchungen im Vertikalprofil	146
5.3.4 Untersuchung von Fütterungseffekten	147
5.3.5 Konzentrationsverteilung in der direkten Umgebung der Anlage in der Wismarer Bucht	149
5.3.6 Bakteriologische Charakterisierung der Wismarer Bucht	149
5.3.7 Effekte der Antibiotikaaanwendung	
6. Schlußfolgerung	155
7. Zusammenfassung (a: Deutsch, b: Español, c: English)	157
8. Literatur	167

DANKSAGUNG

Diese Arbeit ist Dr. Jürgen Winter R., dem Begründer der Studienrichtung „Meeresbiologie“ an der Universidad Austral de Chile, gewidmet.

An erster Stelle möchte ich meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. (mult.) Harald Rosenthal, herzlich für die Möglichkeit danken, bei ihm zu promovieren. Ich bedanke mich auch für das in mich gesetzte Vertrauen, den Anforderungen dieser wissenschaftlichen Arbeit gerecht zu werden, für die zahlreichen Ratschläge sowie für die Bereitstellung von finanziellen Mitteln zur Durchführung der Untersuchungen.

Weiterhin danke ich Herrn Dr. Reinhard Zimmermann in Chile für sein Engagement bei der Vertiefung und Weiterentwicklung meiner Forschungsideen sowie für die Anregung, in seinem Heimatland Deutschland zu promovieren.

Großer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Hans-Georg Hoppe für seine konstruktive Kritik, wodurch zahlreiche neue Aspekte in die Arbeit miteinbezogen werden konnten.

Herrn Dr. Sören Ullrich danke ich besonders herzlich für seine vielfältige Unterstützung bei den Untersuchungen, für seine kritischen Bemerkungen zur Diskussion der angewandten Methoden und die Durchsicht des Manuskripts.

Bedanken möchte ich mich ferner bei Herrn Dr. W. Jansen von der Landesforschungsanstalt für Landwirtschaft und Fischerei Mecklenburg Vorpommern, der mir freundlicherweise die Produktionsdaten von der Wismarer Bucht sowie Daten der Makrofauna zur Verfügung gestellt hat.

Dank sagen möchte ich auch Dr. Hans Kossmann, Tassilo Jäger und Manfred Hanekamp. Sie ermöglichten es mir, in ihren Zuchtanlagen einen Teil der Untersuchungen durchzuführen. Weitere Untersuchungen fanden dank des Einverständnisses von Prof. Dr. Renato Westermeier an der Universidad Austral de Chile (Campus Pelluco) statt.

Das Hauptfischereiamt Chile (Subsecretaría de Pesca) förderte weite Teile des Vorhabens und insbesondere die Untersuchungen in Chile waren durch diese Hilfe möglich. Weitere Unterstützung erhielt ich durch die Kooperation mit Prof. Dr. Hugo Campos und Dr. Humberto González von der Universidad Austral de Chile.

Besonderer Dank gilt meinen zahlreichen Korrektoren, die sprachlich und inhaltlich am Werke waren; hervorheben möchte ich Antje Schulz, Thilo Rießner, Rebecca Graumann, Nils Reimann, Dr. Heiko Seilert, Dr. Winfried Widemeyer, Reimer Dobberstein, Jana Regel, Dr. Rory Wilson, Brigitte Rohloff und Sergio Silva sowie Mandy Kierspel und Regine Koppe.

Dr. Bumke und Dr. Bachor besorgten mir meteorologische und physikochemische Daten, R. Kipping half mir mit Zubehör für den Strömungsmesser aus. Dafür danke ich ihnen ganz herzlich, ebenso wie dem „Rechner-Nothilfedienst“ personifiziert durch Boris Kijeloff, Thomas Kujawski, Thilo Rießner und Budy Wiryawan.

Ein ganz herzliches Dankeschön möchte ich dem DAAD aussprechen, der mir durch die Erteilung eines Stipendiums finanzielle Unterstützung während des Aufenthaltes in Deutschland gewährte.

1. Einleitung

In den letzten Jahren hat die Aquakultur im Rahmen der Weltfischerei den größten Zuwachs erreicht (Rosenthal 1994; Pillay 1996). Es sind auch erhebliche wissenschaftliche Fortschritte in bezug auf die Abschätzung und Kontrolle von Umweltauswirkungen intensiv betriebenen Kulturen erzielt worden. Allerdings heißt das nicht, daß die gesamte Aquakulturproduktion von weltweit etwa 25 Mio. t jährlich (FAO - WWW 1996), mit einem Anteil an Salmonidenproduktion von ca. 400.000 t (Josupeit 1995), lokal keine Umweltbelastungen nach sich ziehen kann. Ein Problem der modernen Aquakultur stellt z.B. das Entkommen von Fischen aus Intensivkulturen dar (Pillay 1996), da dadurch Wildbestände der gleichen Art und zusätzlich die Artenzusammensetzung der Fischpopulationen verändert werden können. Die Übertragung von Fischkrankheiten auf Wildbestände stellt eine weitere große Gefahr dar (Beveridge 1996). Dabei muß die Anwendung von Antibiotika sehr kritisch betrachtet werden (s. 1.2), da in vielen Ländern mit hoher Aquakulturproduktion nur unzureichende Voraussetzungen für deren Kontrolle gegeben sind. Ein weiteres Problem wird durch die Freisetzung von organischen Stoffen (Futterreste und Stoffwechselendprodukte) ausgelöst (Rosenthal & Munro 1985), die entweder im Sediment akkumulieren (Brown *et al.* 1987, Tsutsumi *et al.* 1991; Findlay *et al.* 1995) oder in gelöster Form vorliegen. Da sich diese Stoffe schädigend auf das Ökosystem auswirken können, besonders dann, wenn sie die Belastbarkeit der unmittelbaren Umgebung von Aquakulturanlagen übersteigen, wurden ihre biologischen und ökologischen Folgen eingehend untersucht (u.a. Rosenthal *et al.* 1988; Hall *et al.* 1990; Neori *et al.* 1991; Jansen *et al.* 1993; Morimura 1993; Knösche 1994; Krost *et al.* 1994; Rosenthal *et al.* 1994).

1.1 Umweltmonitoring in der Aquakultur

Obwohl die Umwelteinflüsse intensiver Fischkulturanlagen gut identifizierbar sind, gibt es aufgrund der weltweit sehr unterschiedlichen Bedingungen an den verschiedenen Standorten verschiedene Auffassungen darüber, wie diese Einflüsse am besten abgeschätzt werden können. Während für landgestützte Anlagen (Teiche, Durchflußanlagen) in den meisten Ländern der EG Abwasservorschriften existieren (Rosenthal *et al.* 1993), ist die Diskussion für ein Monitoring der Käfiganlagen in Küstengewässern noch nicht abgeschlossen. Die Entwicklung eines Monitoringsprogramms wird aber als dringend erforderlich angesehen (Rosenthal *et al.* 1988; GESAMP 1996), weil bisher keine standardisierten Variablen für die Überwachung der intensiven Aquakultur in küstennahen Gebieten zu Verfügung stehen (Rosenthal 1994). Einige Autoren plädieren für ein chemisches Monitoring verschiedener gelöster und sedimentierender Stoffe (Brown *et al.* 1987; Hall *et al.* 1987; Ackefors & Enell 1994), andere wiederum halten ein Biomonitoring-Verfahren, z.B. mit Hilfe von Algen, für vorteilhafter (Niemi 1985; Neori *et al.* 1991; Davies 1994; Doust *et al.* 1994). Der ICES (1995) empfiehlt eine Kombination von chemischen und biologischen Monitoring-Meßverfahren.

Der springende Punkt ist jedoch, daß die Umweltinteraktionen der Aquakultur aber nicht nur von der Menge an produzierten Organismen abhängen, sondern hauptsächlich von dem Management sowie von der Auslegung des Betriebes (Rosenthal & Munro 1985; Kelly 1995; Tacon *et al.* 1995). Das Management spielt eine besonders wichtige Rolle, die nicht

immer durch das physikochemische Monitoring richtig abgeschätzt wird. Die Anwendung standardisierter physikochemischer Meßparameter zur Bewertung der Umwelt sagt mehr über die Charakteristika des Standortes als über die Qualität des Managements aus. Dadurch wird ein grundsätzliches Prinzip der Produktionseffizienz und des Umweltschutzes, nämlich „Think globally, act locally“ übersehen. So könnte ein unseriöses Management an einem Standort mit genügend Wasseraustausch, eine sehr gute Bewertung erhalten. Im Gegensatz dazu könnten sehr gute Managementtechniken schlecht bewertet werden, wenn sie in einer weniger dynamischen Bucht produzieren würden. Somit wäre die Ausnutzung von immer weniger geeigneten Küstengebieten nicht optimal, da verantwortlich handelnde Aquakulturbetriebe keine Bestätigung ihrer Wissensinvestition bekämen. Dieses häufige Artefakt in den Gewässergüteberichten intensiv betriebener Aquakulturanlagen wurde bereits von Tsutsumi *et al.* (1991) und Beveridge *et al.* (1994) erkannt.

Die UNEP-Definition für Monitoring wird als ein Prozeß wiederholter Beobachtungen beschrieben, der zu einem bestimmten Zweck durchgeführt wird und je nach Zielsetzung einen oder verschiedene Umweltparameter umfaßt. Dabei wird ein fester Zeit- und Ortsplan eingehalten, und es werden vergleichbare Umweltmeßmethoden und Erfassungssysteme eingesetzt. Nach ICES (1995) können die Ziele eines Monitoring-Programms nach folgenden Punkten zusammengefaßt werden:

- „To provide the information necessary to assess the impacts of specific natural variations and/or human activities“;
- “To identify, describe and follow long-term patterns and trends in marine processes and ecosystems“;
- „To judge the efficiency of regulatory measures or to ensure compliance with specific regulations, in order to assist in decision-making on matters concerning the quality of the environment.“

Die aus der Aquakultur freigesetzten Stoffe sind in der Regel analytisch leicht zu bestimmen. Allerdings sind dem technisch Grenzen gesetzt:

1. Die Qualitätsvariablen, die punktförmig in der Wassersäule und in den Sedimenten unter den Käfigen analysiert werden, weisen oft eine deutliche räumliche und zeitliche Heterogenität auf. Nur umfangreiche Beprobungen erlauben es, das Umfeld einer Aquakulturanlage im Hinblick auf die Umweltbelastung mit organischem Material aus der Fischzuchtanlage hinreichend chemisch zu charakterisieren.
2. Irreguläre sowie sporadische Schadstoffeinträge werden nicht immer mit dem chemischen Monitoring-Programm nachgewiesen, z.B. Antibiotika, so daß diese in der Praxis sehr schwer erfaßbar sind. Sie dürfen in ihren Auswirkungen jedoch nicht unterschätzt werden (z.B. Schwermetalle in Antifoulings).
3. Man kann aus praktischen Gründen nur wenige chemische Stoffe analytisch sauber trennen und nachweisen, da störende Einflußgrößen anderer Komponenten den Nachweis erschweren (Cairns & van der Schalie 1980).
4. Praxisorientierte analytische Methoden sind oft nicht empfindlich genug, um die teilweise sehr geringeren Konzentrationen zu messen (Hertz 1991). Es können aber schon in geringen Konzentrationen auftretende organische Stoffe häufig einen negativen Effekt im Ökosystem verursachen (Cairns & van der Schalie 1980; Warwick 1988).

5. Chemische Monitoring-Methoden können nichts darüber aussagen, inwieweit sich die Toxizität organischer Stoffe bei unterschiedlicher Wassertemperatur, Salinität oder Härte verändern (Lewis & Horning 1991; Poleo 1992; Diamond *et al.* 1992).

Das Biomonitoring stellt eine nützliche Ergänzung der chemischen Wasseranalyse dar (Doust *et al.* 1994), da neben Informationen über die Konzentration von Belastungsstoffen, auch deren Effekte erfaßt werden können (Spellerberg 1991).

Algen eignen sich für ein Biomonitoring ganz besonders, da sie am Anfang vieler trophischer Ketten stehen. Sie reagieren schnell auf Eutrophierungseinflüsse und sind meistens gegenüber Schadstoffen empfindlicher als höhere Organismen (Crowder 1991; Swanson *et al.* 1991). Unter den Wasserpflanzen könnten die Makrophyten, die mit Wurzeln im Sediment verankert sind, solche Indikatortaufgaben übernehmen. Mikroalgen sind oft resistenter gegen Schadstoffe, und schwimmende Algen haben keinen Kontakt zum Sediment, in dem die Hauptverschmutzung auftritt (Doust *et al.* 1994). Allerdings sind bewurzelte Makroalgen nicht ubiquitär verbreitet, was ihre Nutzung als Bioindikatoren einschränkt. In oligotrophen Binnengewässern sowie im offenen Meer sind sie nicht vorhanden. Bei der Untersuchung von Makroalgen treten zwei wichtige Probleme auf: Zum einen ist es sehr schwer, Proben epiphyten- und epifaunafrei zu erhalten, und zum anderen akkumulieren die nachzuweisenden Substanzen in den äußeren Schichten der Algen und nicht in den inneren Geweben, so daß die Isolation für die Analyse erhebliche Schwierigkeiten mit sich bringt. Aus diesem Grund lassen die Ergebnisse nur eine begrenzte Interpretation zu. Der ICES (1995) rät daher von einem derartigen Monitoring ab.

Um die durch Aquakulturanlagen in Küstenbereichen hervorgerufene Zustandsänderungen zu erfassen, schlägt Gowen (1994) eine quantitative Bestimmung des Gesamtchlorophyllgehaltes des Phytoplanktons für das Monitoring vor. Mikroalgen und ihr Chlorophyllgehalt stehen in sehr enger Beziehung zu Eutrophierungsprozessen, allerdings nicht nur zu solchen, die durch Fischkulturen hervorgerufen werden (z. B. Niemi *et al.* 1970; Willén 1979; Campos *et al.* 1992; Beveridge 1996). Ihre Nutzung als Indikatorarten ist somit nicht spezifisch genug für die Erfassung von Umweltauswirkungen intensiver Aquakulturanlagen.

Bakterien hingegen bieten sich als mögliche Alternative für die systematische Untersuchung des Gewässerszustandes (Andrushaitis 1983) und von Umwelteffekten von Aquakulturanlagen an (Brown 1991). Sie erfüllen wie die Algen alle oben genannten Bedingungen und darüber hinaus haben den Vorteil, daß sie ubiquitär sind und bestimmte Gruppen bzw. Arten sehr schnell und empfindlich auf geringfügige Umweltveränderungen (u.a. Nährstoffeinträge) reagieren (Qin *et al.* 1995). Dies stellt eine wichtige Voraussetzung für Organismen dar, die zu Monitoringzwecken verwendet werden sollen (Spellerberg 1991). Sie finden daher seit Anfang des Jahrhunderts in verschiedenen Bereichen des Umwelt-Monitoring als Zeigerorganismen Verwendung (Rheinheimer 1991).

Einzelne Bakteriengruppen reagieren unterschiedlich auf die Vielfalt freigesetzter Stoffe, die ins Wasser gelangen. Es gibt jedoch erst unzureichende Kenntnisse über die Dynamik solcher Gemeinschaften im Bereich von Aquakulturanlagen. Austin (1985) beschreibt beispielsweise das Artenspektrum, das in einer Steinbutt-Anlage gefunden wurde und zeigt Unterschiede in der Mikroflora im Wasser und im Darm von Fischen auf (Austin & Al-Zahrani 1988). Niemi (1985) berichtet von hohen Enterobacteriaceae-Konzentrationen im

Abfluß einer finnischen Süßwasser-Forellenanlage. In Japan wurden im Darm freilebender Fische höhere Dichten der Gattung *Vibrio* gefunden als im umgebenden Wasser (Sugita *et al.* 1988). Brown (1991) beschreibt die enge Beziehung zwischen der Konzentration heterotropher Bakterien und der Distanz zu einer Salmoniden-Zuchtanlage in einem oligotrophen See Chiles.

Außerdem weisen die Sedimente unter Aquakulturanlagen eine hohe Konzentration organischer Stoffe auf; d.h. sie sind „attraktive“ Habitate für die Bakteriengemeinschaften, die einerseits über längere Zeit in Sedimenten verbleiben und somit in verschiedenen Schichten schwankende Einträge aus der Wassersäule reflektieren (Carr & Goulder 1990) und andererseits auch sehr schnell auf kurzfristige Veränderungen von Umweltbelastungen reagieren können (Kerry *et al.* 1995 b).

Der Nachweis pathogener Stämme, die in Biomonitoringprogrammen nachgewiesen werden können, stellt zudem eine wichtige Information sowohl für den Umweltschutz als auch für das Produzentenmanagement dar und ist somit sowohl von ökologischer als auch von ökonomischer Bedeutung. Ebenso nützlich für die Produzenten, die bakteriologische Parameter bestimmen, sind die spezifischen Untersuchungen zur Antibiotikaaanwendung und -resistenz im Behandlungsfall. Die Probennahme und Analyse lassen sich methodisch einfach durchführen.

Ein Biomonitoring darf jedoch nicht auf den Nachweis bakterieller Erreger begrenzt werden. Krankheitsausbrüche bei Fischen stehen auch mit anderen Faktoren der Fischphysiologie und der Interaktionen zwischen Wirt-Erreger in Verbindung, die noch nicht geklärt sind (Inglis *et al.* 1994). Der Nachweis bakteriologischer Krankheiten als Indikation des Umweltzustandes an einem Standort wurde schon durch den ICES (1994) als unzureichend erklärt und den Bedarf nach weiteren Untersuchungen zu diesem Thema geäußert.

Die Grundlagen für ein Umweltmonitoring mit Hilfe bakteriologischer Testverfahren liegen vor. Sie sind in der Trinkwasseraufbereitung sowie in der Abwasserklärung bekannt und weitgehend standardisiert (Rheinheimer 1991). Dagegen gibt es nur wenige Untersuchungen, die die unmittelbaren bakteriologischen Belastungen im Umfeld von Käfiganlagen für die Fischzucht zum Ziel haben.

1.2 Stand der Forschung zur Antibiotika-Anwendung und Resistenzbildung.

Die Antibiotika werden in der Fischkultur auf verschiedene Weise verabreicht (Beverdige 1996). Normalerweise werden sie den Futter-Pellets zugegeben, um Bakterienkrankheiten zu bekämpfen. Des weiteren werden Antibiotika zur Stimulierung von Wachstumsprozessen in der Fischkultur eingesetzt (Twiddy & Reilly 1995; Arzul *et al.* 1996). Da kranke Fische jedoch nicht immer gut fressen, werden oftmals die Therapeutika von gesunden Fischen aufgenommen und dadurch eine prophylaktische und nicht eine therapeutische Anwendung ermöglicht. Meistens werden die verabreichten Pellets in der Umgebung der Anlage freigesetzt (bis ca. 80%), wo sie sich hauptsächlich im Sediment anreichern (Husevåg *et al.* 1991; Samuelsen *et al.* 1992). Sogar 18 Monate nach ihrem Einsatz konnten unter Käfigen Antibiotika noch chemisch nachgewiesen werden (Samuelsen *et al.* 1992; Hansen *et al.* 1993). Antibiotika können außerdem aus dem Sediment resuspendiert werden

und so wieder ins Wasser gelangen. Smith (1996) beweist aber in einer theoretischen Betrachtung, daß nur ein Bruchteil der angegebenen Antibiotika im Sediment verbleibt.

Die Auswirkungen des Einsatzes von Antibiotika in der Aquakultur und in der Umwelt können u. a. in folgenden Punkten zusammengefaßt werden:

1. Bakterienpopulationen können sehr unterschiedlich und oftmals nicht vorhersehbar auf diese Anwendungen reagieren (z. B. Coyne *et al.* 1994; Kerry *et al.* 1994, 1995).
2. Aufgrund zunehmender Resistenzbildung werden bei jedem Krankheitsausbruch immer neue bzw. größere Mengen an Antibiotika benötigt.
3. Mögliche physiologische Konsequenzen durch Veränderung der normalen Darmflora stellen ein Risiko für das Wachstum und die Nahrungskonversion dar (Cravedi *et al.* 1987; Austin & Al-Zahrani 1988; Hansen *et al.* 1993; Samuelsen *et al.* 1992).
4. Der Ernährungszustand und die Anfälligkeit der Fische gegenüber Infektionen ändert sich im Laufe der Zeit, wobei Larven besonders gefährdet sind, da Antibiotika auch toxische Wirkungen haben (Hansen *et al.* 1993).
5. Die Wildfauna kann die resuspendierten Chemotherapeutika und resistent gewordene Keime aufnehmen und dadurch die Gefahr der Ausbreitung von Krankheiten verstärken (Nygaard *et al.* 1992).
6. Durch Veränderungen sowohl der Keimzahlen als auch der Qualität der Bakterienpopulationen in den Sedimenten kann sich auch die Abbaurrate für sedimentierte organische Stoffe verringern (Nygaard *et al.* 1992; Hansen *et al.* 1993).

Chemoresistenz

Im Gegensatz zu höheren Organismen können Mikroorganismen Resistenzen gegenüber Fremdstoffen entwickeln, die auf verschiedene Weise vererbt werden können. Die Resistenz kann erworbenen oder natürlichen Ursprungs sein. Erstere kommt dadurch zustande, daß sich entsprechende Stämme außerhalb des Wirkungsspektrums bestimmter Antibiotika befinden. Das kann durch Permeationsbarrieren, enzymatische Inaktivierungen oder geringe Affinitäten des jeweiligen Antibiotikums verursacht worden sein. Bei der erworbenen Resistenz unterscheidet man zwischen genetischen und biochemischen Mechanismen (Forth *et al.* 1977).

Genetische Mechanismen der Resistenz gegen Therapeutika:

- Chromosomale Resistenz (interbakteriell, nicht übertragbar): Sie wird durch Mutationen hervorgerufen und kann unter Selektionsdruck zu einer neuen Population führen.
- Extrachromosomale Resistenz (infektiös, interbakteriell übertragbar): Hierbei handelt es sich um extrachromosomal abgelagerte Gene, die Informationen von Resistenzen gegenüber Therapeutika oder anderen Stoffen haben, wie beispielsweise R-Faktoren oder anderen Plasmiden. Sie können sich unabhängig entwickeln und werden durch folgende Prozesse übertragen:
 - Konjugation: Diese genetische Informationsübertragung (intra- oder interspezifisch) erfolgt bei Zellkontakt durch einen Proteinfaden (Pilus). Dies ist der wichtigste Mechanismus von R-Plasmid-Übertragungen überhaupt.

- Transduktion: Sie wird durch Bakteriophagen übermittelt, die die Resistenzdeterminanten vom Donator zur Empfängerzelle transportieren. Bis 1994 hatte niemand die Transduktion in marinen Sedimenten untersucht (Sandaa 1994).
- Transformation: Es handelt sich um die Inkorporierung von exogener DNS, die die Resistenzinformation hat. Es wird vermutet, daß die Transformation nur auf einige wenige Arten beschränkt ist.

Biochemische Mechanismen der Resistenz gegen Therapeutika:

- Enzymatische Inaktivierung: Bakterien können bei Antibiotika- oder Schwermetallzugabe diese teilweise hydrolysieren, acetylieren, phosphorylieren oder adenylieren. Dadurch sind diese nicht mehr in der Lage, ihre Hemmaktivität zu entwickeln.
- Reduzierte Zellpermeabilität und Veränderung am Rezeptor: Über die Vorgänge dieser beiden Mechanismen bestehen keine klaren Vorstellungen.

Im Sediment unter den Käfiganlagen oder in der Nähe der Ausläufe landgestützter Anlagen existiert eine Vielfalt von Bakterien, von denen einige pathogen sind (Enger *et al.* 1989). 1989 wurde erstmals eine interspezifische R-Plasmidenkonjugation (Resistenz gegen Oxytetracycline) im Sediment unter einer Käfiganlage beobachtet (Sandaa *et al.* 1992). In der Zeit nach 1990 berichtet Sandaa (1994) über mehrere Beobachtungen von interspezifischer Konjugation von R-Plasmiden in Fischkulturanlagen. Die Zunahme der Antibiotikaeinsätze führte zu einer größeren Resistenzbildung (Baya *et al.* 1986), wobei in den letzten Jahren besonders in Norwegen die Anwendung von Antibiotika stark gesunken ist (Smith *et al.* 1994b). Problematisch ist, daß die entwickelte Resistenz der Bakterien gegen bestimmte Antibiotika länger im Sediment erhalten bleibt als die Stoffe selbst (Husevåg *et al.* 1991). Dies spielt eine wichtige Rolle im Management von Fischkulturanlagen, da immer häufiger Veränderungen in der Therapie erforderlich werden. Andere Stoffe wie z.B. Schwermetalle, organische Komponenten und Radioisotope können ebenfalls erhöhte Antibiotikaresistenz verursachen (Sandaa 1994).

1.3 Zielsetzung der Arbeit

Im Aquakultur-Monitoring stellt sich die kombinierte Abschätzung des Wasser- und Sedimentzustandes küstennaher Gebiete als hilfreiche Ergänzung dar. Ziel des Einsatzes solcher Methoden ist es, ein Frühwarnsignal im Vorfeld ökologischer Schäden zu abzugeben sowie den Produzenten wichtige biologische Informationen zu liefern.

In der vorliegenden Arbeit sollen die Kenntnisse über die Dynamik von Bakteriengemeinschaften im Bereich von Aquakulturanlagen vertieft werden und die Möglichkeit geprüft werden, ob sich bestimmte physiologische Bakteriengruppen für ein Biomonitoring im Einzugsbereich solcher Anlagen nutzen lassen. Die Standardisierung einer einfachen bakteriologischen Methode, die als Ergänzung zu physikochemischen Meßverfahren zusätzlich zur Kontrolle des ökologischen Zustandes eines Gewässers eingesetzt werden könnte, würde nicht nur eine wichtige Information für das Aquakulturmanagement darstellen, sondern auch

eine qualitative und quantitative Beurteilung der Auswirkungen von Aquakulturanlagen auf den Gewässerzustand und die Sedimente im Umfeld solcher Anlagen zulassen.

Der Vergleich zweier bezüglich der abiotischen und biotischen Rahmenbedingungen sowie des Produktionsmanagements sehr unterschiedlichen Salmoniden-Anlagen soll dabei zeigen, inwieweit sich bestimmte Bakterienarten oder -gruppen für ein derartiges Biomonitoring universell einsetzen lassen, oder aber in Abhängigkeit von den jeweiligen Bedingungen am Standort andere Arten oder Gruppen zu bevorzugen.

2. Charakterisierung der Untersuchungsgebiete

Es wurden für diese Untersuchung exemplarisch zwei Aquakulturanlagen ausgewählt. Eine Aquakulturanlage (2.1) liegt in der Wismarer Bucht, Deutschland (Abb. 1) und die zweite Anlage (2.2) in der Ilque-Bucht, Chile (Abb. 4). Ergänzende Untersuchungen wurden in einer Anlage der Kieler Bucht, Deutschland, durchgeführt. Weitere Informationen zu Geographie und Produktion siehe Krost *et al.* (1994).

2.1 Wismarer Bucht

2.1.1 Hydrographie und anthropogener Einfluß

Die Wismarer Bucht umschließt eine Wasserfläche von 168,9 km². Sie liegt im südlichen Teil der Ostsee an der Küste von Mecklenburg-Vorpommern (53°59'N, 11°24'E), Abb. 1. Am südlichsten Rand der Bucht liegt die Hansestadt Wismar mit ca. 100.000 Einwohnern.



Abb. 1: Lage der Wismarer Bucht in der Ostsee einschließlich 0 und 5 m-Tiefenlinien, und des Standortes der Kalfjananlage.

Die mittlere Tiefe der Bucht beträgt 5,5-6,0 m (Jansen *et al.* 1993). Sie ist morphologisch durch ausgedehnte Flachwasserbereiche (unter 5 m, siehe Abb. 1) sowie eine tiefere Fahrwasserrinne charakterisiert. Die Käfiganlage befindet sich über einem Flachwasserbereich etwa in der Mitte der Bucht.

Die höchsten Salinitäten werden im Winter und die niedrigsten im Sommer gemessen. Die Schwankungen der Salinität sowie des Sauerstoffgehaltes stehen in Zusammenhang mit Salzwassereinbrüchen von der Nordsee in die Ostsee (Møller & Hansen 1994). Im Winter 1993/1994 fand ein besonders großer Wassereinstrom statt. Aufgrund des hohen Eutrophierungsgrades und der damit verbundenen hohen Sauerstoffzehrung bei gleichzeitig geringem Wasseraustausch erreicht der Sauerstoffgehalt in der Ostsee im Sommer häufig den anoxischen Bereich.

Die Wismarer Bucht wird als eutrophiert beschrieben (Prena 1990; Ministerium für Bau, Landesentwicklung und Umwelt Mecklenburg-Vorpommern LUM M-V 1992). Dabei spielt die vorhandene Infrastruktur vor 1989 eine bedeutende Rolle. So lag die geschätzte Phosphorbelastung durch Haushaltsabwässer („point sources“) bei 150-165 t Gesamtposphat / Jahr und einem Eintrag von ca. 100 t Gesamtposphat / Jahr durch die Landwirtschaft („non-point sources“) (Jansen pers. Mitteilung). Nach 1991 wurde die Kläranlage Wismar mit einer kombinierten Fällungsflockung mit Eisen-(III)-Chlorsulfat nachgerüstet (LUM M-V 1991). Dadurch wurde eine Herabsetzung des BSB₅ um ca. 60 %, eine Verminderung des Phosphorgehaltes um ca. 85 %, sowie eine Reduzierung der Schwermetalle um ca. 50 % erreicht (LUM M-V 1991).

Gegenwärtig beläuft sich der Phosphoreintrag nur noch auf 10,5 bis 15,5 t / Jahr (Jansen, unveröffentlicht). Die aus diesem Eintrag resultierende Orthophosphatkonzentration lag 1993 im Jahresmittelwert 67 % bis 74 % unterhalb der Jahresmittelwerte von 1981-91 (LUM M-V 1993). Die Konzentrationen von Phosphor und Stickstoff im Jahr 1994 sind in der Abb. 2 dargestellt.

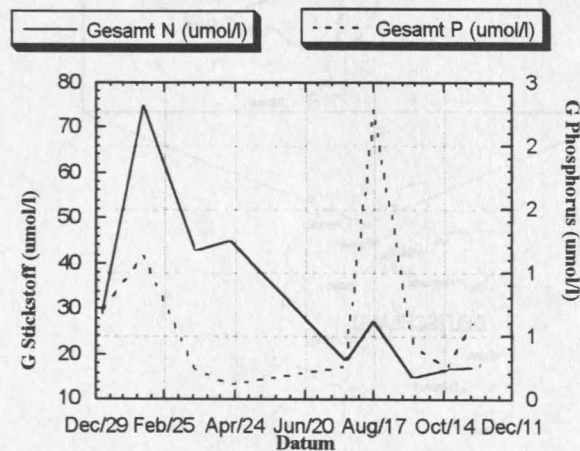


Abb. 2: Phosphor- und Stickstoffkonzentrationen 1994 in der Wismarer Bucht. (Daten des Ministeriums für Bau, Landesentwicklung und Umwelt, Mecklenburg-Vorpommern).

2.1.2. Die Fischkulturanlage Forellenhof

Das Unternehmen hatte eine jährliche Produktion an Regenbogenforellen von ca. 40 t. Die Anlage besteht aus 2 Flotillen, die je 8 bis 10 Käfige von jeweils ca. 12 m³ enthalten. Die Fütterung der Fische wurde einmal täglich per Hand durchgeführt. Die Anlage befand sich südlich der Insel Poel, ca. 300 m von der Insel Haifisch entfernt, so daß die Käfige teilweise vor starken Nordwinden geschützt waren. Die Käfige waren im Sediment nur an einer Stelle verankert, so daß eine Bewegung um 360° in Abhängigkeit von der Windrichtung möglich war (Abb. 3). Die Netze hatten einen maximalen Tiefgang von 5 m. Die Fahrrinne des Hafens für die Schifffahrt in die Ostsee befindet sich 800-1000 m von den Käfigen entfernt. Auf der Insel Poel und in den Randgebieten der Stadt Wismar gibt es Feriensiedlungen. Der Tourismus trägt möglicherweise saisonal zur Umweltbelastung der Bucht bei.

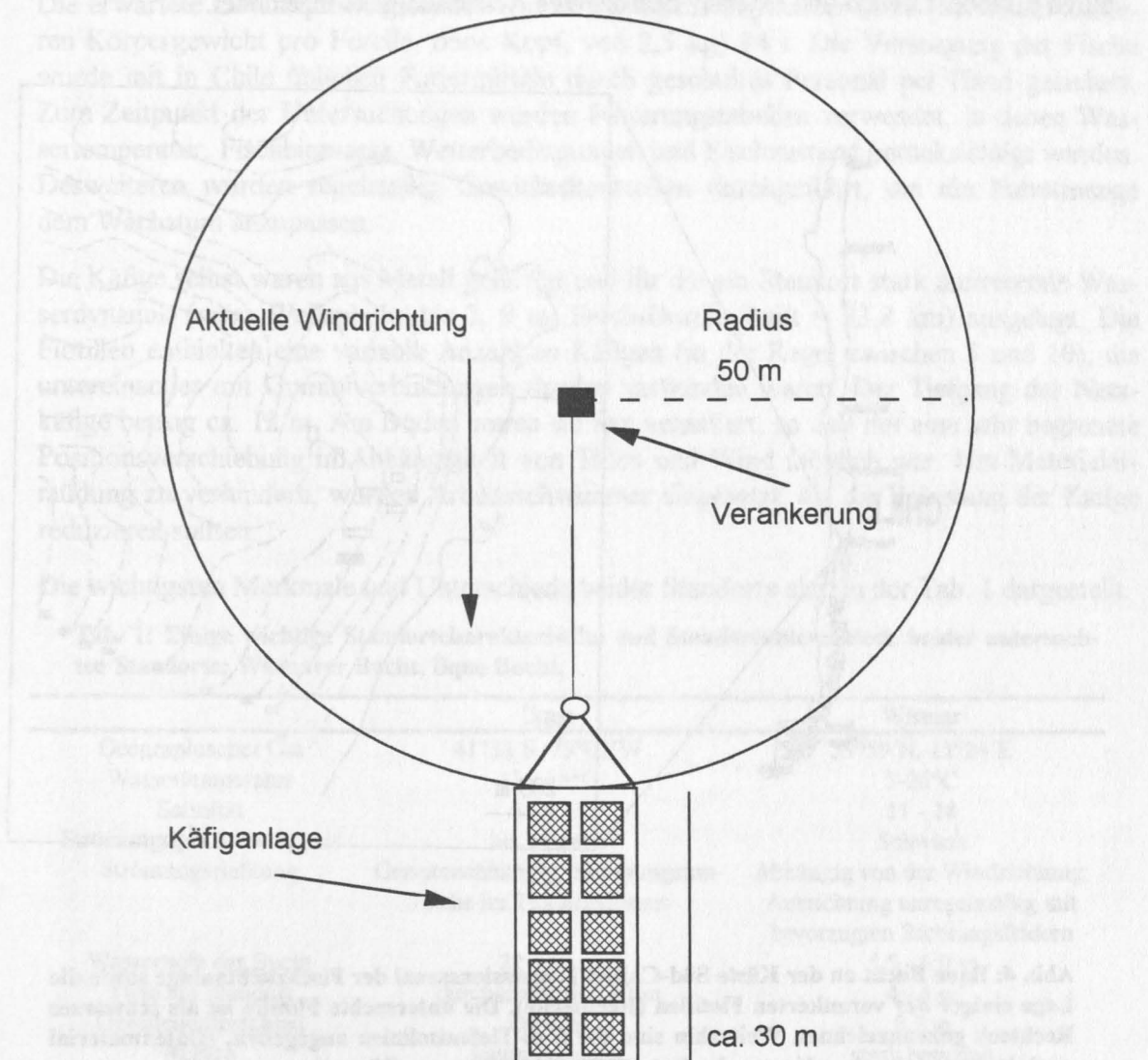
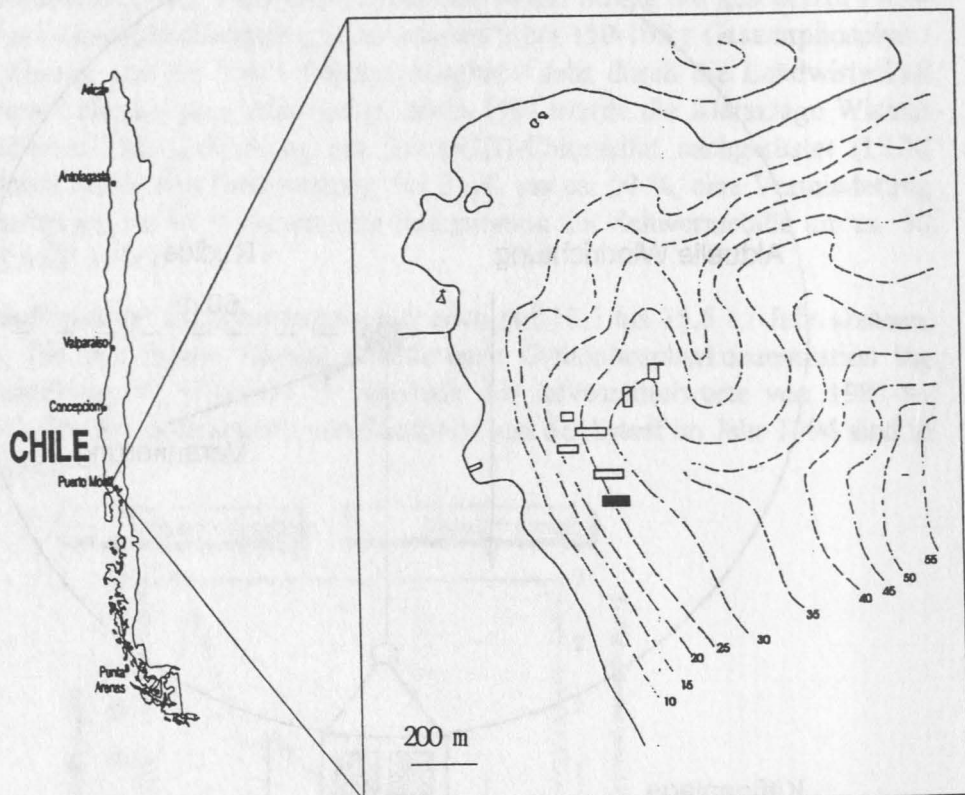


Abb. 3: Schematische Darstellung der Käfiganlage in der Wismarer Bucht. Durch die Art der Verankerung der Anlage wird eine Verteilung der Betriebsreste auf ein relativ großes Areal erreicht. Dadurch wird eine geringere Akkumulation pro Fläche von sedimentierten Stoffen und ein schnellerer Abbau ermöglicht. Radius = ca. 50 m

2.2 Ilque-Bucht

2.2.1 Hydrographie und anthropogener Einfluß im Untersuchungsgebiet

Die untersuchte marine Anlage liegt in der Ilque Bucht, Seno de Reloncaví, Provincia de Llanquihue, Chile zwischen $41^{\circ}37'S$ - $41^{\circ}38'S$ und $73^{\circ}01'W$ - $73^{\circ}03'W$. Das Klima der Region ist charakterisiert durch deutlich saisonale Unterschiede mit starken Regenfällen im Herbst und Winter bei durchschnittlichen Lufttemperaturen um $7-12^{\circ}C$ und durch eine Trockenheit in der Sommersaison mit $18-25^{\circ}C$. Im Gegensatz zur Wismarer Bucht befinden sich dort keine großen Siedlungen in der Nähe der Anlage (nur ein Dorf mit ca. 2000 Einwohnern in Bahía Huelmo; Entfernung etwa 6 km). Zwei weitere Fischzuchtanlagen sind innerhalb eines Umkreises von 10 km angesiedelt. Die Küstenlinie innerhalb von 20 km ist durch Strände, Urwald und extensiv bearbeitetes Ackerland gekennzeichnet.



wurden. Es gibt keine wissenschaftlichen Angaben über die Stickstoff- und Phosphorgehalte dieser Bucht. Die Wassertemperatur schwankt normalerweise zwischen 9° und 16°C in der inneren Bucht. Die Sedimentneigung beträgt ca. 3 %, die mittlere Tiefe ist 25 m, die maximale Tiefe 40 m (Lemaitre & Rubilar 1992).

In der Wassersäule der Anlage sind mehrmals Phytoplanktonblüten (vermutlich *Skeletonema costatum*) aufgetreten, die gelegentlich hohe Mortalitätsraten von kultivierten Fischen hervorgerufen haben. Einige dieser Algenblüten wurden von Lemaitre & Rubilar (1992) beobachtet und beschrieben.

2.2.2. Die Fischkulturanlage Patagonia Salmon Farming S.A.

Die untersuchte Flotille in Ilque bestand aus 8 Käfigen mit ca. 1000 m³ Volumen pro Käfig. Die erwartete Gesamtproduktion der Flotille betrug bis September 1995 (bei einem mittleren Körpergewicht pro Forelle, ohne Kopf, von 2,5 kg) 84 t. Die Versorgung der Fische wurde mit in Chile üblichen Futtermitteln durch geschultes Personal per Hand gesichert. Zum Zeitpunkt der Untersuchungen wurden Fütterungstabellen verwendet, in denen Wassertemperatur, Fischbiomasse, Wetterbedingungen und Fischzustand berücksichtigt wurden. Desweiteren wurden regelmäßig Gewichtskontrollen durchgeführt, um die Futtermenge dem Wachstum anzupassen.

Die Käfige selbst waren aus Metall gefertigt und für die am Standort stark auftretende Wasserdynamik (max. Wellenhöhe bis 2,9 m, Fetch-Durchschnitt = 33,8 km) ausgelegt. Die Flotillen enthielten eine variable Anzahl an Käfigen (in der Regel zwischen 5 und 10), die untereinander mit Gummiverbindungen flexibel verbunden waren. Der Tiefgang der Netzkäfige betrug ca. 12 m. Am Boden waren sie fest verankert, so daß nur eine sehr begrenzte Positionsverschiebung in Abhängigkeit von Tiden und Wind möglich war. Um Materialermüdung zu verhindern, wurden Arbeitsschwimmer eingesetzt, die die Belastung der Käfige reduzieren sollten.

Die wichtigsten Merkmale und Unterschiede beider Standorte sind in der Tab. 1 dargestellt.

Tab. 1: Einige wichtige Standortcharakteristika und Standortunterschiede beider untersuchten Standorte: Wismarer Bucht, Ilque Bucht.

	Ilque	Wismar
Geographischer Ort	41°32'S, 73°02'W	53°59'N, 11°24'E
Wassertemperatur	11 - 15°C	3-26°C
Salinität	31 - 33	11 - 18
Strömungsgeschwindigkeit	bis 20 cm/s	Schwach
Strömungsrichtung	Gezeitenabhängig; Strömungsumkehr im Tidenrhythmus	Abhängig von der Windrichtung; Ausrichtung unregelmäßig mit bevorzugten Richtungsfeldern
Wassertiefe der Bucht	22 - 40 m	5,5 - 6,0 m
Tiefe am Standort	durchschnittlich 22 m	4 - 5 m
Gezeitenunterschied	bis 7 m	0,2 m
Region	kaum besiedelt	stark besiedelt
Trophiegrad	oligotroph-mesotroph	eutroph-hypertroph

3. Material und Methoden

In dieser Arbeit sollte die Eignung von einzelnen Bakterienarten oder physiologischen Gruppen als Indikatoren für den Gewässer- und Sedimentzustand im Bereich von Aquakulturanlagen untersucht werden. Um die Rahmenbedingungen am Standort zu erfassen, war es zunächst erforderlich, eine Charakterisierung der untersuchten Areale anhand von standardisierten physikalischen und chemischen Meßparametern des Aquakultur-Monitorings (Brown *et al.* 1987; Rosenthal *et al.* 1988) vorzunehmen. Desweiteren sollte mit Hilfe statistischer Analysen der Einfluß dieser Bedingungen auf verschiedene bakteriologische Gruppen untersucht werden. Unter 3.0 ist die Beschreibung der gemeinsam angewandten Meßverfahren angegeben, unter 3.1 (Wismar) und 3.2 (Ilque) sind die ortsspezifisch angewandten Meßverfahren zusammengefaßt. Spezielle Untersuchungen zur Feststellung der Quelle erhöhter Bakterienkonzentrationen nach der Fütterung wurden an einer Käfiganlage der Kieler Förde durchgeführt (3.3)

3.0 In beiden Anlagen gemeinsam eingesetzte Meßverfahren

3.0.1 Physikalische und chemische Variablen

In beiden Anlagen wurde die **Wassertiefe** (m) mit Hilfe eines Lots gemessen. Sie lieferte wichtige Angaben über die Wasservolumina und somit über die Hälterungskapazität der Buchten.

Die **Wassertemperatur** (°C) wurde mit einem Thermistor (Fenwall GB 32JM19) gemessen und mit den Messungen eines Quecksilberthermometers und einer Sonde-OXI 196 (WTW) verglichen. Die Wassertemperatur innerhalb der Käfige bestimmt die Effizienz der biochemischen Prozesse in den Fischen (die optimale Temperatur für die wachsende Forelle beträgt 16°C (Holliman 1993)) und außerdem wichtige makro- und mikrobiologische Prozesse (u.a. enzymatische Aktivität (Hoppe 1983)).

Die **Leitfähigkeit** (mmho/cm) wurde mit Hilfe einer Leitfähigkeitszelle (Magnetic Metals, p/n 380µ 8602) ermittelt. Die Leitfähigkeitsdaten wurden in **Salinitäten** umgewandelt. Die Salinität wurde zudem in beiden Anlagen vor Ort mittels eines Konduktometers LF 191 (WTW) für nicht stationäre Messungen bestimmt. Salzgehaltsschwankungen, die durch heftige Niederschläge, Verdunstung oder Salzwassereinströme (Wismarer Bucht) verursacht werden, können die in einer Kultur gehaltenen Fische vor osmotische Probleme stellen. Sie sind somit als ein zu berücksichtigender Streßfaktor zu werten (Mazeaud & Mazeaud 1981; Rosenthal & Munro 1985)

Zur **Strömungsmessung** wurde ein vorher kalibrierter Aanderaa RCM 7-8-Strömungsmesser eingesetzt.

Die **Sauerstoffkonzentration und -sättigung** (mg/l, %) wurde mittels einer Sonde OXI 196 (WTW) gemessen. Die Sonde wurde vor jedem Einsatz mit Hilfe der Winckler-Methode kalibriert.

Sauerstoff ist das wichtigste Gas für Fische. Es spielt eine wichtige Rolle für den Stoffwechsel und darüberhinaus für ihr Wachstum (Morimura 1993; Branson 1993; Southgate 1993). Die Konzentration kann durch Temperatur und Salinität beeinflusst werden (Rosenthal *et al.* 1981). Die minimale, noch tolerierbare Konzentration für Regenbogenforelle beträgt 5,5 mg/l (Holliman 1993).

Das **Profil des Redoxpotentials des Sedimentes** (mV) wurde mit Hilfe einer Redoxsonde (Ingold Elektrode Pt-4805-DXK-S8) im Sediment untersucht. Der Eh-Wert resultiert aus der Messung der Spannung in einer zu untersuchenden Lösung zwischen zwei Silber-Silberchlorid-Elektroden (in 0,1 mol/l KCl-Lösung). Über das Löslichkeitsprodukt des AgCl und die definierte Cl⁻-Konzentration der KCl-Lösung stellt sich eine definierte Ag⁺-Konzentration ein, so daß daraus ein definiertes Elektrodenpotential von $E(\text{Ag}^+/\text{Ag})=0,2894 \text{ V}$ resultiert (Mortimer 1987). Die Sonde wurde vor Untersuchungsbeginn vom Hersteller überprüft. Vor jedem Einsatz wurde sie nach Anleitung geeicht. Da eine direkte Beziehung des Redoxpotentials zu den anaeroben mikrobiellen Prozessen besteht, wurde die Eh-Wert-Bestimmung in die Untersuchung miteinbezogen. Der Eh-Wert kann unter den Zuchtkäfigen deutlich absinken (Dahlback & Gunnarson 1981).

3.0.2 Bakteriologische Untersuchungen

Die Angaben gaben bereits Hinweise auf eine generell veränderte bakterielle Flora in der Nähe hoher Fischdichten. Austin (1982, 1985) und Austin & Austin (1985) beschreiben eine signifikante Steigerung der Häufigkeit von Bakterien der Gruppe Enterobacteriaceae im Abfluß einer Steinbutt-Zuchtanlage in Küstengewässern Großbritanniens. Ähnliche Daten wurden von Niemi (1985) in einer finnischen Forellenzucht ermittelt. Deshalb wurde ein Selektivmedium zum Nachweis von Enterobacteriaceae in die Untersuchungen eingeschlossen. Die Angaben von Prieur (1985); Schlotfeldt (1985); Sugita *et al.* (1988); Spanggaard *et al.* (1993); Shireman & Cichra (1994) und Brown & Zimmermann (unveröffentlicht) führten dazu, die *Vibrio*-Gruppe als zweiten möglichen Bioindikator zur Beurteilung des Umweltzustandes zu untersuchen. Um bestimmte, für ein Biomonitoring geeignete Bakteriengruppen und um Änderungen innerhalb der Bakteriengemeinschaften an den Standorten in Abhängigkeit von den umgebenden Bedingungen erfassen zu können, wurden diese zwei Selektiv- und zusätzlich zwei Elektivmedien zur Anzucht von Bakterien verwendet. Die Inkubationstemperaturen für das Identifizierungsverfahren und die Antibiotogramme wurden an die Umwelttemperatur angepaßt.

Inkubationsmedien und Kulturbedingungen:

- ZoBell-Brackwasser-Medium wurde zum Nachweis saprophytisch lebender Bakterien verwendet (Pepton: 5g; Hefe Extrakt: 1g; NaCl: 8g; Agar 15g und 1000 ml destilliertes Wasser; pH=7,2). Es wurden 0,2 ml Probenwasser auf Agarplatten ausgespatelt. Die Kolonienanzahl wurde nach 5 und 7 Tagen Dunkelinkubation bestimmt.
- Tryptose-Soy-Agar (TSA oder CASO-Agar, Merck Nr. 5458) ist ein generell zur Anzucht vieler, auch anspruchsvoller Mikroorganismen geeignetes Medium. Ullrich (1992) definiert das TSA-Medium als ein geeignetes Medium auch zur Anzucht fischpathogener Bakterien. Es wurden 0,2 ml Probenwasser auf Agarplatten ausgespatelt. Bei den Kolonien, die auf TSA wuchsen, lag die Inkubationstemperatur zwischen 20-25°C und die Inkubationszeit bei 6-7 Tagen.

- ENDO-C-Agar (Merck Nr. 4044) ist ein Selektivnährboden zum Nachweis und zur Isolierung fäkaler *E. coli* und koliformer Bakterien (APHA 1975). Es wurden 0,2ml Probenwasser auf Agarplatten ausgespatelt. Den Angaben des Herstellers folgend wurden die Platten 24 Stunden lang bei 37°C inkubiert und alle roten und rosa Kolonien wurden ausgezählt.
- Thiosulfate-Citrate-Bile-Sucrose-Agar (TCBS, Merck Nr. 10263). Dieses Medium ist selektiv für *Vibrio* und wurde von Kobayashi et al. (1963) entwickelt. Die mit 0,2 ml Probenwasser bebrüteten Platten wurden für 48 Stunden im Dunkeln bei 37°C inkubiert. Es wurden alle gewachsenen Kolonien gezählt, die häufigsten beschrieben und durch den unten beschriebenen API 20E-Test ausdifferenziert.

Identifizierung der Kolonientypen

Die wichtigsten Kolonientypen, die auf den Medien TSA und TCBS wuchsen, wurden beschrieben. Reinkulturen, die ein ausreichendes Wachstum zeigten, wurden in 0,15 M NaCl suspendiert und zur Identifizierung mit API-20E (bioMérieux) und zur Bestimmung der bakteriologischen Resistenz gegenüber Antibiotika herangezogen. Diese Stämme wurden auch für spätere Untersuchungen im TSA-Bouillon kultiviert.

Die Identifizierung der Bakterienarten und -stämmen erfolgte in einem dreistufigen Verfahren, um die Fehlerwahrscheinlichkeit auf ein Minimum zu reduzieren. Erstmals wurde in Zusammenarbeit mit dem Institut für Biophysik der Universität Kiel (Dipl. Physiker T. Rießner) eine Software zur Entschlüsselung der Ergebnisse der API-20E Reihe entwickelt. Als zweite Stufe wurden die Daten des API-20E-Tests mit dem kommerziellen Programm APILAB (zur Identifizierung von API-Testreihen) des Instituts für Hygiene der Universität Kiel verglichen. Als dritte Stufe wurden die biochemischen Eigenschaften der Stämme mit Angaben aus der Literatur verglichen. Die doppelte Kontrolle der Ergebnisse gewährleistete eine große Sicherheit bei der Identifizierung.

Das Vibriostaticum-0/129 wurde zur Differenzierung von Stämmen der Gattung *Vibrio* und *Aeromonas* (Ullrich 1992) verwendet. Die Anwendung erfolgt mit Hilfe von sensi-discs. Es wurden jeweils zwei Discs mit 150 µg und 10 µg des Vibriostaticums-0/129 verwendet. Wenn deutliche Hemmungskreise bei beiden Discs auftreten, wird eine *Vibrio*-Art vermutet. Hemmhöfe zeigen die Sensitivität des Testorganismus gegenüber dem Vibriostaticum an. Während *Vibrio*-Arten Vibriostaticum gegenüber sensitiv sind, zeigen *Aeromonas*-Arten in der Regel eine V/O 129-Resistenz.

Bestimmung der Antibiotika Resistenz

Bakterielle Krankheiten, die in der Intensivaquakultur auftreten, werden normalerweise mittels verschiedener Therapeutika bekämpft. Zudem erfolgen in der Praxis häufig Zugaben von Antibiotika zur Krankheitsprophylaxe und als „Wachstumsbeschleuniger“ in gesunden Käfigbeständen.

Die verwendeten Therapeutika haben aber neben dem erwünschten Effekt auf pathogene Erreger (der nicht immer erfolgt) auch unbekannte Einflüsse auf die nicht fischpathogenen Bakteriengemeinschaften und können u.a. Antibiotikaresistenzen hervorrufen.

Um Informationen über bereits vorliegende Resistenzen zu erhalten, die die Verwendung von Bakterien als Indikatoren beeinträchtigen könnten, wurden Antibiotogramme (nach Bauer *et al.* 1966) für isolierte Stämme erstellt. Im einzelnen wurden dabei 0,4 ml der jeweiligen Bakterienkultur (resuspendiert in physiologischer Kochsalzlösung) auf TSA- und TCBS-Agarplatten ausgespatelt. Im Anschluß daran wurden verschiedene Antibiotika in unterschiedlichen Konzentrationen (Tab. 2) auf sensi-discs (Oxoid) mit Hilfe eines Dispensers auf die Agarplatten aufgebracht. Nach 48 Stunden Inkubation bei 20-25°C wurden die Platten auf Hemmhöfe hin untersucht und deren Durchmesser in cm bestimmt.

Tab. 2: Konzentrationen der angewendeten Antibiotika und des Vibriostaticums-0/129 (sensi-discs) zur Bestimmung der Resistenzentwicklung und zur Differenzierung von *Vibrio* und *Aeromonas*.

Name	Abkürzung	Konzentration (µg)
Oxitetacyclin	OT	30
Furazolidon	FR	50 und 100
Ampicillin	AMP	10
Chlortetracyclin	C	10 und 30
Vibriostaticum	V/O 129	10 und 150

3.0.3 Statistische Analyse

Physikochemische Meßparameter

Die Strömungs- und Windrichtungsdaten (nur von Ilque) wurden einer Frequenzanalyse unterzogen, um die Positionierung der Käfige zu erfassen. Redoxpotential, Sauerstoffkonzentration, Glühverlust, Wassergehalt, Temperatur, Tiefe und Salinität wurden nur beschreibend ausgewertet.

Bakteriologische Analyse

Zur bakteriologischen Analyse wurden verschiedene stochastische Verfahren angewendet. Ziel der statistischen Analysen war die Ermittlung zeitlicher und räumlicher Korrelationen der Bakteriengruppen mit:

1. der Temperatur;
2. der Quelle des organischen Eintrags (Netzkäfige);
3. weiteren lokalen Faktoren, die unter 3.1.2 und 3.2.2. detailliert dargestellt sind.

Die Normalverteilung der Daten der analysierten Bakteriengruppen wurde durch einen Kolmogorov-Smirnov-Test (Lilliefors-Test) ermittelt (Zar 1996). Bei parametrischen Daten wurden die o.g. Korrelationen durch ANOVA getestet. Für nicht parametrische Datensätze wurden Mann-Whitney bzw. Kruskal-Wallis Tests durchgeführt. Bei signifikante Unterschieden innerhalb der getesteten Datensätze wurde anschließend ein Tukey-Test (Zar 1996) durchgeführt.

Zur Darstellung der Daten wurden Box-and-Whisker-Plots verwendet, welche besonders für nicht parametrische Daten geeignet sind. Durch sie kann die Verteilung der Muster besonders gut erfaßt werden (Abb. 5).

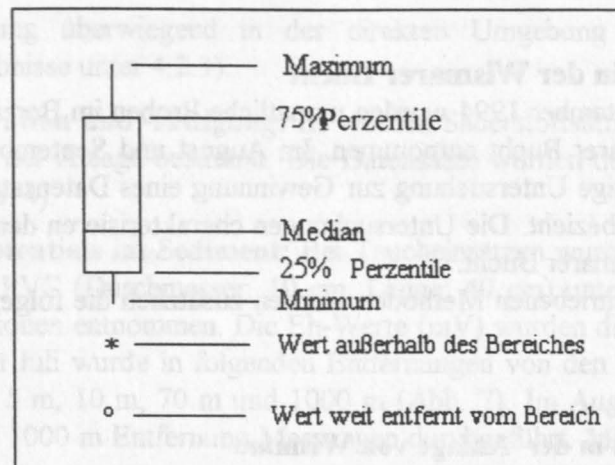


Abb. 5: Box-and-Whisker-Plots Graphik zur Darstellung nichtparametrischer Ergebnisse. Die Angabe des Medians, der Quartilen sowie der Werte außerhalb des Bereiches erlauben eine zusammenfassende Übersicht über die Verteilung der Daten.

Analyse der Produktionsparameter

Da die Freisetzung von Resten aus der Fischkultur abhängig vom „stock level“ und Management ist (Marsden *et al.* 1995), wurden die Hauptkomponenten der Produktion mitberücksichtigt (Fischbiomasse, Mortalität, Futterzugabe, Antibiotikaanwendungen). Ziel war es, die Auswirkungen unterschiedlicher Managementtechniken auf standardisierte Monitoring-Methoden sowie den Einfluß auf mögliche bakteriologische Indikatoren zu untersuchen. Bei der Analyse der Produktionsdaten beider Anlagen wurden unterschiedliche statistische Verfahren durchgeführt die im einzelnen unter 3.1.1.6 und 3.2.1.6 dargestellt sind.

3.1 Datenerfassung in der Wismarer Bucht

Zwischen Mai und September 1994 wurden monatliche Proben im Bereich der Käfiganlage und der inneren Wismarer Bucht entnommen. Im August und September erfolgte vor Ort eine ergänzende 10-tägige Untersuchung zur Gewinnung eines Datensatzes, der tageszeitliche Veränderungen einbezieht. Die Untersuchungen charakterisieren den Bereich der Anlage und der inneren Wismarer Bucht.

Neben den bereits beschriebenen Methoden wurden zusätzlich die folgenden Variablen untersucht:

3.1.1 Fischproduktion in der Anlage von Wismar

Daten zum Produktionsverfahren der untersuchten Aquakulturanlage wurden von Dr. W. Jansen (Landesforschungsanstalt für Landwirtschaft und Fischerei, Mecklenburg-Vorpommern) zur Verfügung gestellt. Ergänzend wurden Daten über (1) Biomasse, (2) Mortalität und (3) Antibiotikazugabe vom Produzenten mitgeteilt, deren Zuverlässigkeit jedoch nicht überprüft werden konnte. Historische Produktions- und Belastungsdaten standen nicht zur Verfügung.

3.1.2 Physikalische und chemische Variablen, Benthos

Tiefe (m): Informationen über die 5 m Tiefenisolinie der Bucht wurden aus der Literatur entnommen (Prena 1990; Jansen *et al.* 1993; Seekarte Nr. 37 des Deutschen Hydrographischen Institutes Hamburg, heutiger Name: Bundesanstalt für Schifffahrt und Hydrographie BSH).

Wassertemperatur (°C): Sie wurde in einer Tiefe von 3-4 m im Mai, Juni und Juli (je 2 Tage) und im August/September (10 Tage) 50 m von den Käfigen entfernt gemessen. Die Thermometermessungen dienten ebenfalls zur Feststellung der thermischen Schichtung der Wassersäule. Ergänzend wurden Daten durch das Ministerium für Bau, Landesentwicklung und Umwelt Mecklenburg-Vorpommern (LUM-MV) und durch den Fischproduzenten zur Verfügung gestellt.

Salinität - Leitfähigkeit (mmho/cm): Die Messungen zur Salinität wurden indirekt über die Leitfähigkeit bei jeder Probennahme in 3-4 m Tiefe und 50 m von den Käfigen entfernt, durchgeführt. Es wurden wiederum Daten des LUM-MV verwendet, um die eigenen Datensätzen zu ergänzen.

Windrichtung und -geschwindigkeit: Es wurden statt Strömungsrichtung und -geschwindigkeitsdaten, die Windrichtung und Windgeschwindigkeitsdaten für 11°5' E, 54°1' N herangezogen. Die Rohdaten des Jahres 1994 stammen vom Wetteramt Hamburg und wurden durch die Abteilung Meteorologie des IfM (Dr. Bumke) zur Verfügung gestellt. Die an einem Punkt verankerte Anlage in der Wismarer Bucht (Abb. 2) erlaubte eine Rotation der gesamten Käfiganlage um 360° in Abhängigkeit von der Windrichtung. Außerdem ließ die geringe Tiefe (4-5 m) der Wismarer Bucht keine weiträumige Verfrachtung der Futterreste und der Fäzes von der Anlage zu, so daß zu erwarten war, daß

die Sedimentierung überwiegend in der direkten Umgebung der Käfige erfolgte (Simulationsergebnisse unter 4.2.3).

Sauerstoffkonzentration und -sättigung: Es wurden Sauerstoffsättigung (%) und -gehalt (mg/l) außerhalb der Anlage bestimmt. Die Datensätze wurden durch Daten des LUM-MV ergänzt (Abb. 4).

Profil des Redoxpotentials im Sediment: Bei Taucheinsätzen wurden Sedimentkerne mit Stechrohren aus PVC (Durchmesser: 10 cm, Länge: 40 cm) unter den Käfigen und an den Referenzstationen entnommen. Die Eh-Werte (mV) wurden direkt nach der Entnahme gemessen. Im Juli wurde in folgenden Entfernungen von den Käfigen das Sediment untersucht: 0 m, 5 m, 10 m, 70 m und 1000 m (Abb. 7). Im August wurden unter den Käfigen sowie in 1000 m Entfernung Messungen durchgeführt. Methodische Details siehe 3.0.1.

Wassergehalt im Sediment: Sedimentproben von 1cm Schichtdicke der ersten vier Zentimeter wurden bei 60°C bis zur Gewichtskonstanz (max. 72 Stunden.) in einem Ofen getrocknet. Der Wassergehalt (% Wasser) ergab sich dann aus der Gewichts Differenz. Der Wassergehalt des Sediments wurde für alle Stationen berechnet. Anhand des Wassergehaltes im Sedimentprofil konnte man erkennen, ob im Verlauf der Sedimentationszeit Schwankungen im Ablagerungsverhalten des Sediments in der Bucht aufgetreten sind.

Glühverlust: Das Sediment wurde bei 60° C getrocknet und kurz danach auf 110-120°C erhitzt. Nach Erreichen der Gewichtskonstanz wurde das Sediment gewogen und in einem Ofen bei 520°C für 6 Stunden verascht. Die Ergebnisse wurden in % Glühverlust dargestellt. Zur Ermittlung des Glühverlusts und des Wassergehalts wurden die ersten vier Zentimeter des Sediments getrennt analysiert. Im Juli wurde eine kleinräumige Untersuchung durchgeführt, wobei zusätzlich die Stationen 5 m und 10 m von den Käfigen entfernt beprobt wurden. Die Sedimentproben wurden zur Bestimmung des Wassergehaltes sowie des Glühverlusts monatlich direkt unter den Käfigen, 70 m von den Käfigen entfernt und an einer Referenzstation 1000 m von den Käfigen entfernt entnommen.

Vorkommen und Verteilung von Makrozoobenthos: Anhand der Daten von Jansen (unveröffentlicht) wurden in Kiel die folgenden Diversitätsparameter zur benthischen Charakterisierung des Habitats berechnet: Individuenzahl/m², Biomasse/m², Simpsons Diversitätsindex (Simpson 1949) und Shannon-Winers Diversitätsindex (Pielou 1966). Bei diesen Untersuchungen wurden Stichproben unter den Käfigen und an einer Referenzstation ca. 1000 m von diesen entfernt mittels eines 0,22 m² Bodengreifers gewonnen. Diese o.g. genannte Gruppe führte ebenfalls die Klassifizierung und Quantifizierung der Makrofauna durch. Da die Akkumulation partikulärer Rückstände aus den Gehegen eine eindeutige Änderung u.a. der Sauerstoffverhältnisse und Sedimentkomposition verursachen, ist die benthonische Makrofauna der Sedimente direkt unter den Käfiganlagen häufig stark beeinflusst (u.a. Brown *et al.* 1987; Rosenthal *et al.* 1988).

3.1.3 Untersuchung zur Bakteriologie des Wassers und des Sedimentes

Es wurden zwei Untersuchungsreihen durchgeführt: (1) langfristige Versuche zur Bestimmung zeitlicher Veränderungen der Bakterienkonzentrationen auf den verschiedenen Nährböden. Dabei wurden besonders die Unterschiede in der Wassersäule und im Sediment so-

wie der Konzentrationsverlauf an den verschiedenen Stationen während des gesamten Untersuchungszeitraumes betrachtet; (2) kurzfristige Untersuchungen mit folgenden Schwerpunkten:

- a. Die vertikale Verteilung der Bakterienkonzentrationen in der Wassersäule (CFU/ml) und
- b. Kurzfristige Effekte auf die Bakterienzusammensetzung nach der Fütterung in der Wassersäule und an der Grenzschicht Wasser/Luft. Tab. 3 gibt einen Überblick über die Beprobung der Wismarer Bucht für beide Versuchsserien.

Tab. 3: Protokoll der beprobten Stationen in der Wismarer Bucht. TSA und TCBS entsprechen den Nährbodenamen.

	Mai	Juni	Juli	August/September
Wassersäule:				
Käfigmitte	1m Tiefe	1m Tiefe	0, 1, 2, 3m Tiefe	1m Tiefe
Entfernung zu den Käfigen (m)	70, (1000 nur TSA)	70, 1000	10, 20 70, 1000	70, 1000
Sediment:				
Unter den Käfigen	1., 2.cm Tiefe	1.cm	1.cm	1.cm (nur TCBS, TSA)
Entfernung zu den Käfigen (m)	70	70	5, 10, 70, 1000	70 (nur TCBS, TSA)

3.1.3.1 Vorkommen einzelner Bakteriengruppen in der Wismarer Bucht

Die am häufigsten auf den Medien TSA und TCBS gewachsenen Bakterienkolonien wurden mehrfach überimpft und anschließend identifiziert. Die Häufigkeit jeder Gruppe an jeder Station wurde analysiert, um (1) die Bucht bakteriologisch zu charakterisieren sowie (2) die Auswirkungen der Fischkulturaktivitäten auf die Zusammensetzung der Bakterienflora zu untersuchen. Die Identifikationsverfahren wurden unter 3.0.2 abgehandelt.

3.1.3.2 Zeitliche Veränderung

Da die Probenentnahme mit dem Produktionsablauf verknüpft werden sollte, wurden Proben aus der Wassersäule und vom Sediment in den Monaten Mai, Juni, Juli und August gewonnen. Auf diese Weise war es möglich, die Änderungen der Parameter vom Anfang der Produktion (Ende Mai) bis zum Ende der Saison (80% der Fische wurden vor Ende August entnommen) durchzuführen. Während dieser Zeit traten erhebliche Veränderungen der Wasser- und Sedimenttemperatur und der Fischbiomasse in den Käfigen auf. Ziel der zeitlichen Analyse war es, die Effekte dieser Änderungen in der Nähe einer intensiven Fischkulturanlage mittels der ausgewählten Nährböden zu beobachten. Für die Untersuchung der lokalen Veränderungen wurde die Wassersäule auf den folgenden Stationen untersucht: direkt an den Käfigen, in 70 m Entfernung und in etwa 1000 m Entfernung. Die Sedimentproben wurden unter den Käfigen (erster Zentimeter) und 70 m von den Käfigen entfernt entnommen.

- Mit einem sterilisierten mikrobiologischen Schöpfer wurde Wasser von den o.g. Stationen in einer Tiefe von 1 und 2 m entnommen. Zur Gewinnung von Sedimentproben wurden 10 ml-Spritzen umgebaut (Brown 1991). Für die Untersuchung wurde jeweils der oberste Zentimeter der Sedimentschicht durch Tauchereinsätze gewonnen.

- Diese Art der Beprobung verhindert weitgehend eine Aufwirbelung des Sedimentes, wie sie beim Einsatz eines Bodengreifers zu erwarten wäre. Der Einsatz solcher Spritzen erlaubt es auch, stets das gleiche Volumen an Sediment zu gewinnen und ermöglicht außerdem die Entnahme und Trennung von Proben aus den verschiedenen Schichten des Sediments. Der erste Zentimeter des Sediments wurde unbeschädigt entnommen und sofort in 1/10 v/v einer sterilisierten Kochsalzlösung gelöst. Bei den nachfolgenden Untersuchungen wurden die vier Nährböden TCBS, ZoBell, ENDO-C, TSA verwendet.

Horizontale Verteilung: Um die räumlichen Unterschiede der bakteriellen Flora in Abhängigkeit von der Entfernung zur Anlage bestimmen zu können, wurden Wasser- und Sedimentproben unter den Käfigen, in 70 m und in 1000 m Entfernung entnommen. Außerdem wurden die ersten zwei Zentimeter des Sediments unter den Käfigen und 70 m von diesen entfernt untersucht. Dabei wurde ein Vergleich der Sediment- und Wassersäulenstationen im Mai, Juni, Juli und August/September durchgeführt. Zusätzlich wurden im Juli 1994 die Sedimente unterhalb der Käfige sowie in 5, 10, 70 und 1000 m Entfernung von den Käfigen untersucht. Die Wassersäule folgender Stationen wurde berücksichtigt: zwischen den Käfigen, 10, 20, 70 und 100 m davon entfernt. Die Bakterienkonzentrationen aus der Wassersäule wurden auch in ihrer zeitlichen Veränderung über den Sommer hinweg verfolgt.

3.1.3.3 Untersuchungen im Vertikalprofil

Im Juli 1994 wurde die vertikale Verteilung der Bakterienkonzentrationen der Wassersäule zwischen den Käfigen (Oberfläche, 1 m, 2 m und 3 m Tiefe) untersucht. Zur Beprobung des Oberflächenfilms wurde ein selbstentwickelter Probenentnehmer verwendet. Dieses Gerät bestand aus einem sterilen Schlauch von 1 mm Durchmesser, daran war ein Korken befestigt, so daß nur die Grenzschicht Wasser/Luft (1-2 mm) aseptisch und pro Volumen quantifizierbar durch eine sterile Spritze abgesaugt wurde. Die so gewonnenen Wasserproben wurden in einer Kühlbox bis zu ihrer endgültigen Laboranalyse (max. 4 Stunden) kühl gelagert. Es wurden Kulturen von den vier o.g. Nährböden verwendet.

3.1.3.4 Bakteriologische Untersuchung vor und nach der Fütterung

Es sollte geprüft werden, inwieweit die starke Verwirbelung des Wassers und der damit verbundene mechanische Abrieb von Partikeln und Bakterien zur Veränderung der bakteriologischen Konzentrationen in der Wassersäule kurz vor und während der Fütterung führten. Während der Fütterung ändert sich die Schwimmaktivität der Fische erheblich, was für verschiedene physiologische Parameter starke Auswirkungen hat (Rosenthal *et al.* 1981). Es wurde außerdem untersucht, inwieweit die Trübung des Wassers aufgrund anderer Veränderungen anstieg. Um eine Quantifizierung und Feststellung der Quellen erhöhter Konzentrationen festzustellen, wurde im Zeitraum August/September zusätzlich untersucht, inwieweit die Fütterung auf die Zusammensetzung und die Menge der natürlichen Bakterienflora Einfluß nimmt. Hierfür wurden die folgenden Stationen beprobt: C (Oberfläche und 2 m Tiefe), R-0, C-0 und C-10 (Abb. 6). Um die Bakterienkonzentrationen zu ermitteln, wurden kurz vor der Fütterung und 10 min danach Proben entnommen. Dabei wurden die bereits oben genannten bakteriologischen Methoden angewendet.

Von Juni-August 1996 wurde außerdem in der Forellenzucht der Kieler Förde eine ergänzende Untersuchung mit Hilfe der Elektronenmikroskopie durchgeführt, um die Ablösung von Bakterien vor und nach der Fütterung vom Netzmaterial zu quantifizieren (s. 3.3).

3.1.3.5 Änderung der Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaften in unmittelbarer Umgebung der Käfiganlage

Mit Hilfe der Analyse der Konzentrationsverteilung der verschiedenen Gruppen in der direkten Umgebung der Anlage sollten die kurzzeitigen Beziehungen zwischen Einträgen aus der Fischkultur und den möglichen Indikatorgruppen im Zeitraum August/September aufgezeigt werden.

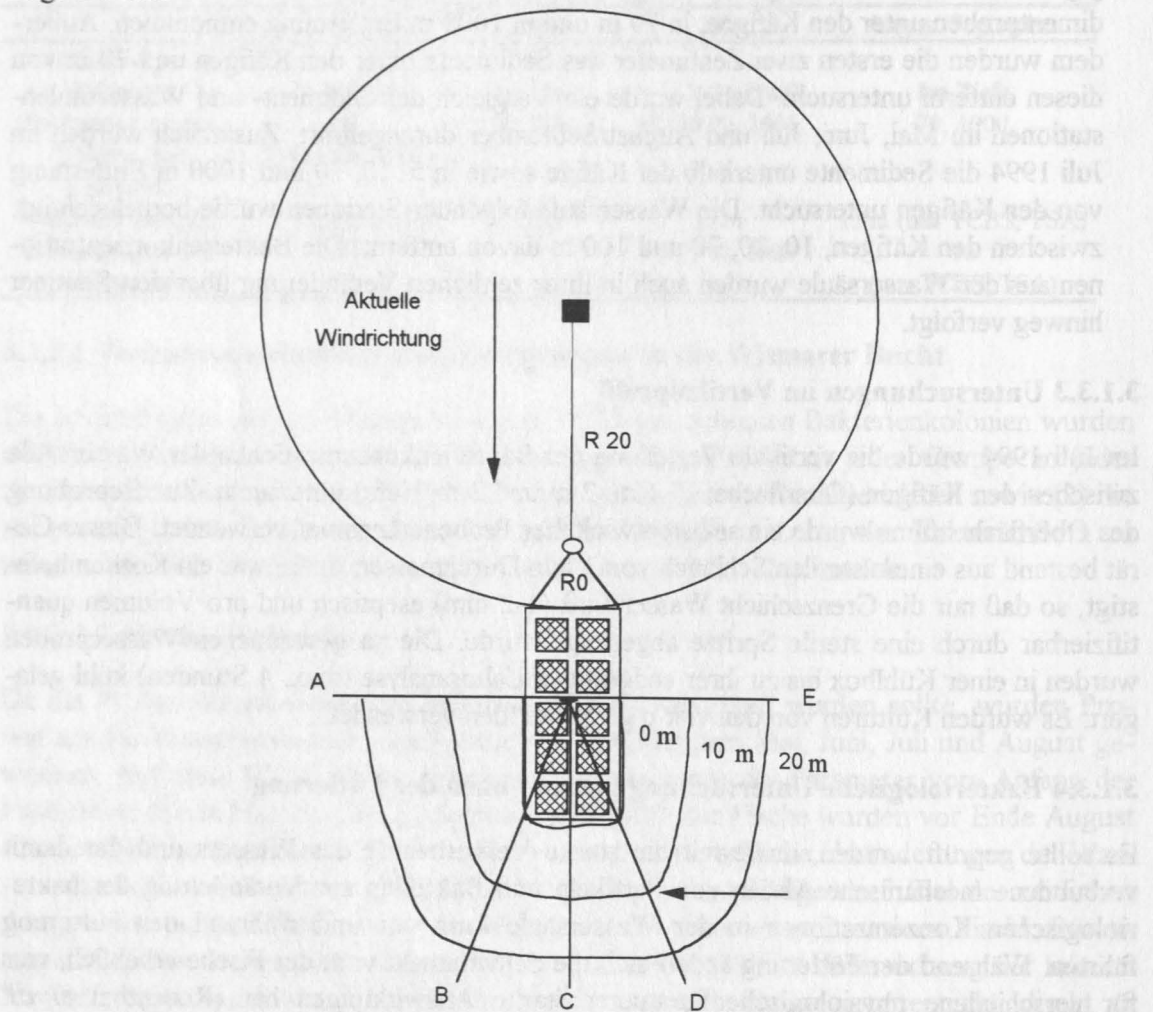


Abb. 6: Schematische Darstellung der beprobten Stationen in der direkten Umgebung der Käfiganlage in der Wismarer Bucht. A bis E markieren gedachte Orientierungslinien im Untersuchungsfeld. Die Schnittpunkte mit den imaginären Achsen geben die Benennung der Station an. Als Beispiel siehe die mit Pfeil markierte Lage von D-10, (Keine proportionale Skala).

Die Käfiganlage war so verankert, daß sie um 360° in Abhängigkeit von Wind und Strömung um den Anker schwingen konnte (Abb. 6). Die Beprobung der Wassersäule mußte daher so vorgenommen werden, daß die Vergleichbarkeit der Proben gewährleistet war.

Dazu wurde eine vom Käfigstandort abhängige Ortsbezeichnung vorgenommen, d.h. es war nicht relevant über welchem Teil des Sediments sich der Käfig befand, sondern aus welcher Richtung Wind und Strömung kamen. Die Stationen wurden dann abhängig von der Käfigpositionierung in vergleichbarem Abstand festgelegt. Vier symmetrische Achsen (A-E, B-0, C-R und D-0) und verschiedene Entfernungen vom Käfigrand (0, 10, 20 m, usw.) erlaubten eine Stationsbezeichnung unabhängig von der Position der Anlage (Abb. 6). Die Stationen wurden nach den Schnittpunkten der Achse und nach den Metern der Entfernung benannt. Im Juli wurden nach diesem Protokoll folgende Stationen beprobt: C-0, C-10, C-20. Im September wurden folgende Stationen nach diesem Protokoll beprobt: C-0, C-10, C-20, C-30, C-40, C-50, B-0, B-10, B-20, D-10, D-20, A-20, R-0, R-20. Mit den erhaltenen Daten wurde eine graphische Darstellung mittels Software Surfer (5.0) modelliert.

3.1.3.6 Bakteriologische Charakterisierung der Bucht

Im August und September wurden Proben (3 Parallelen) an den Stationen in der Wismarer Bucht entnommen (Abb. 7), um die Bucht bakteriologisch charakterisieren zu können und dabei Quellen organischer Belastung zu identifizieren. Insbesondere sollte festgestellt werden, in welchem Verhältnis die Bakterienkonzentrationen im Bereich der Anlage zu denen an anderen Stationen der Bucht standen und inwieweit Änderungen in der Zusammensetzung der Bakterienflora auftraten. Die Beprobung erfolgte an folgenden Stationen: 100 m von den Käfigen in Richtung Norden, Süden, Westen und Osten, Innere Poel-Bucht (Kläranlagenabfluß), Mitte der Poel-Bucht, 1000 m von den Käfigen entfernt in Richtung Insel Poel, zwischen Käfiganlage und Wismar, Eingang zum Wismarer Hafen, Wismarer Hafen und im Abflußbereich der Wismarer Kläranlage.

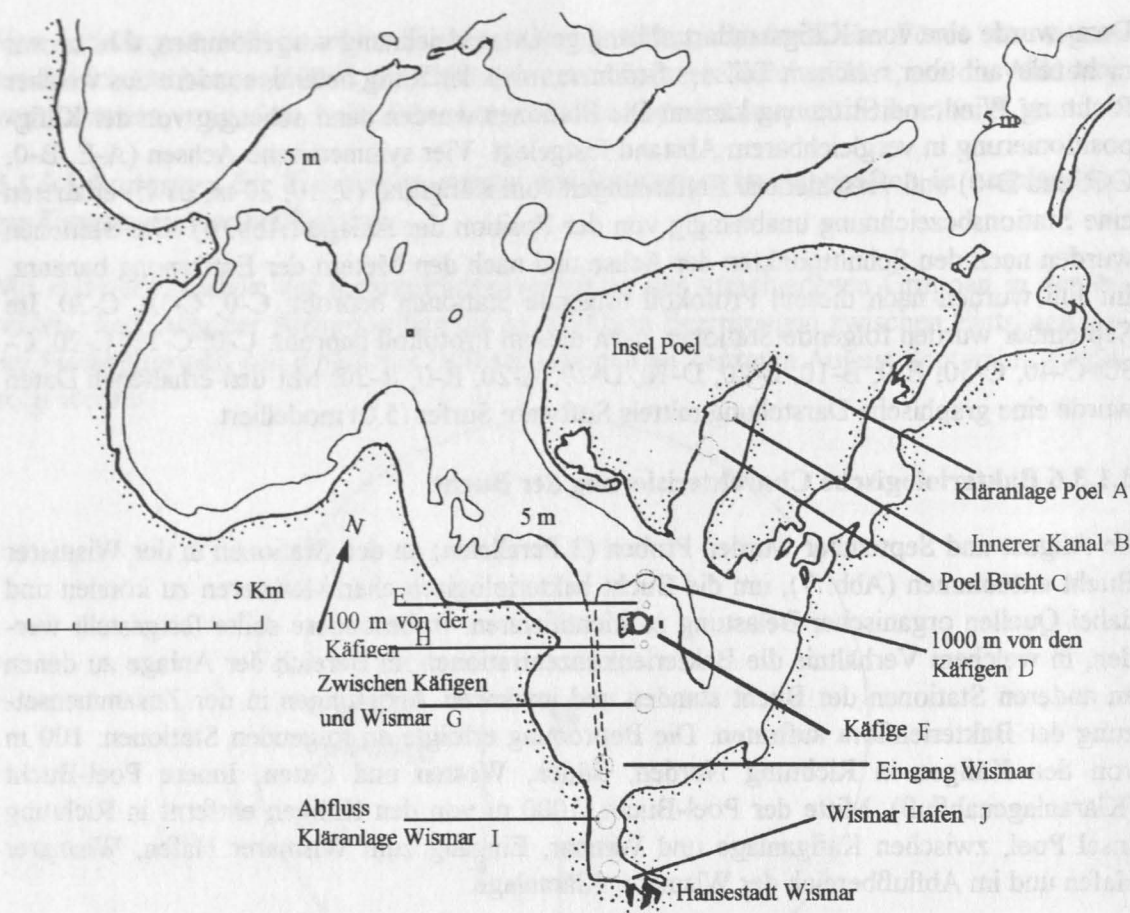


Abb. 7: Wismarer Bucht. Lage der Stationen (Kreise), an denen Proben zur bakteriologischen Charakterisierung der Bucht gewonnen wurden. Die Stationen sind zusätzlich mit Buchstaben versehen. Mit einem dickeren Kreis ist der Standort der Käfige gekennzeichnet.

3.1.3.7 Antibiotikaresistenz

An Wasser- und Sedimentproben wurden Antibiotigrammtests nach Bauer *et al.* (1966) durchgeführt, die die Prüfung auf gesetzlich zugelassene und nicht zugelassene Antibiotika beinhalteten. Ziel war es, festzustellen, inwieweit Antibiotikaresistenzen in der bakteriellen Gemeinschaften der Wassersäule und des Sedimentes vorliegen und ob sie Sensitivität im Bereich der Fischzuchtanlage entwickelten. Die angewendete Antibiotogramm-Technik ist unter 3.0.2 abgehandelt. Im Juli wurden frisch gestorbene Forellen nach Darmflora-Resistenz untersucht.

3.2 Datenerfassung in der Ilque-Bucht, Chile

Die Untersuchungen in der Ilque Bucht erfolgten zwischen Februar und Mai 1995. Da die Untersuchungen in der Wismarer Bucht bis September 1994 durchgeführt worden sind, waren Zwischenergebnisse bereits vorhanden. Diese gaben Hinweise auf die Bedeutung des Sediments für eine mögliche bakteriologische Beurteilung des Gütezustandes im Bereich der Käfiganlage. Daher wurde die Untersuchung der Anlage in Chile gezielt auf mögliche mikrobiologische Veränderungen im Sediment ausgerichtet. Spezielle Untersuchungen hierzu sind unter 3.2.2 aufgeführt.

3.2.1 Fischproduktion in der Ilque-Anlage

Alle wichtigen Produktionsdaten der untersuchten Fischkulturanlage wurden täglich ermittelt und von der Firma zur Verfügung gestellt. Dazu zählten Angaben zu (1) Biomasse, (2) Mortalität der Fische, (3) Behandlungsdauer und Dosierung von Antibiotika, (4) täglicher Futtergabe pro Käfig A, (5) Futterkonversions-Index (FCR) und (6) ökonomischem Futterkonversions-Index (FCA). Zur Auswertung wurde aus den Biomassedaten des Produzenten, aus der erwarteten Produktion und aus dem Therapiezeitraum eine Funktion hergestellt, die den täglichen Biomassezuwachs und die daraus resultierende Antibiotikazugabe berechnet.

Historische Daten physikochemischer Umweltparameter sowie einzelner private Untersuchungen wurden vom Betreiber der Anlage bereitgestellt (Jaramillo & Pino 1992; Lemaitre & Rubilar 1992). Bereits 1991 ist eine Umweltverträglichkeitsstudie am Standort durchgeführt worden (Brown & Zimmermann, unveröffentlicht).

3.2.2 Physikalische und chemische Variablen

In dieser Anlage wurden 6 Stationen mit dem Bodengreifer am Rand der Flotille beprobt (Abb. 8). Referenzproben wurden 500 m von den Käfigen entfernt gewonnen.

Die in der Anlage Ilque angewandten Methoden stimmten im wesentlichen mit denen in der Wismarer Bucht überein. Aufgrund der unterschiedlichen Eigenschaften der Betriebe in beiden Anlagen wurde das Meßprogramm jedoch den lokalen Gegebenheiten angepaßt.

Tiefe: Die Tiefe wurde an den Stationen 1 bis 4 bei verschiedenen Gezeitenständen bestimmt. Ergänzend wurde die Karte Nr. 704 der „Instituto Hidrográfico de la Armada de Chile“ und eine Tiefenkarte des Produzenten zur exakten Standortbestimmung verwendet. Ziel war es dabei, batimetrische Daten zur Sedimentationsmodellierung zu liefern.

Wassertemperatur (°C): Es wurden zwischen dem 14.3.95 und dem 30.4.95 kontinuierliche Temperaturmessungen mit Hilfe eines Aanderaa RCM-7-Gerätes durchgeführt. Am 23.3.95 und 19.4.95 wurden vertikale Profile der Temperatur aufgenommen, um die Tiefe der Temperatursprungsschicht innerhalb der Käfige festzustellen. Methodische Details siehe 3.0.1.

Salinität - Leitfähigkeit: Der Salzgehalt wurde ebenfalls kontinuierlich zwischen dem 14.3.95 und der 30.4.95 gemessen. Methodische Details siehe 3.0.1.

Strömungsrichtung und -geschwindigkeit (cm/s): Für diese Messungen wurde ein Strömungsmesser Aanderaa RCM 7-8 verwendet. Das Gerät wurde in 8 m Tiefe vom 18.4.95 bis zum 28.4.95 und in 14 m Tiefe vom 16.3.95 bis 30.3.95 eingesetzt. Die Positionierung des Strömungsmessers erfolgte durch ein am Boden verankertes Seil 50 m von den Käfigen entfernt (außerhalb des Strömungsschattens). Am Strömungsmesser wurde bei der ersten (16.3.95 bis 23.3.95) und zweiten Messung (24.3.95 bis 30.3.95) ein Meßintervall von 2 Minuten eingestellt. Bei der dritten (18.4.95 bis 19.4.95) und vierten Messung (20.4.95 bis 28.4.95) wurde das Meßintervall auf 5 Minuten eingestellt. Die Rohdaten wurden in ASCII - Dateien in der Speichereinheit aufgezeichnet und mittels der Aanderaa Software analysiert. Die Richtungsdaten wurden nach der entsprechenden magnetischen Korrektur für Chile in geographische Daten umgewandelt. Dadurch wurde eine Frequenzanalyse der Strömungsrichtung ermöglicht, um einerseits das Sedimentationsareal unter den Käfigen zu bestimmen und andererseits die Verfrachtung pelagischer Bakterien aus den Käfigen zu berechnen. Die Daten zur Strömungsgeschwindigkeit wurden in cm/s nach Herstelleranleitung umgerechnet.

Sauerstoffsättigung und -gehalt (% , mg/L): Ziel dieser Messungen war es, die natürlichen Werte der Bucht an der Referenzstation im Vergleich zu den Werten unterhalb der Käfiganlagen zu registrieren. Dafür wurden am 15.3.95 außerhalb der Käfige und am 23.3.95 zwischen den Käfigen Sauerstoffprofile erstellt. Am 18. und 19.4.95 wurden Sauerstoffprofile innerhalb und außerhalb der Käfige gemessen, um Unterschiede der Sauerstoffkonzentration und -sättigung feststellen zu können.

Profil des Redoxpotentials im Sediment: Am 23.3.95 und am 18.4.95 wurden Redoxpotentiale an allen vier Stationen im Bereich der Käfige gemessen (Abb. 8). Die Sedimentproben wurden mittels eines Bodengreifers gewonnen. An der Referenzstation wurde der Redoxwert am 18.4.95 bestimmt. Am 23.3.95 wurde zusätzlich an einem alten Gehege-Standort das Redoxpotential gemessen.

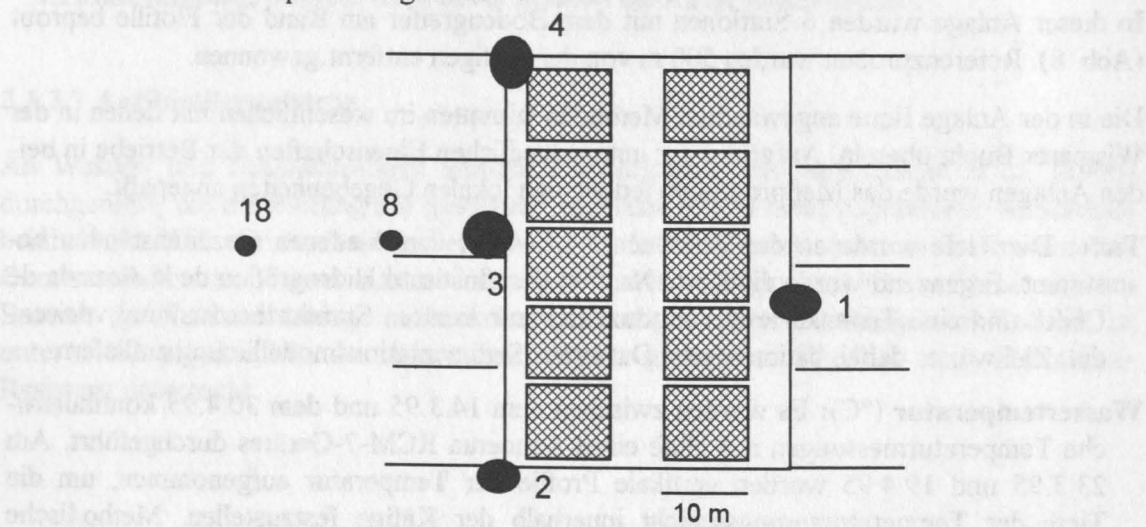


Abb. 8: Schematische Darstellung der Anordnung der Käfige in der untersuchten Flotille in der Itque-Bucht, Chile. Die schwarzen Bereiche geben die Lage der verschiedenen Stationen in unmittelbarer Nähe (große Punkte) und in unterschiedlichen Abständen von der Anlage (kleine Punkte) an, (Station 8= 8m; Station 18= 18m von Station 3 entfernt).

Simulation der Sedimentation: Mit den Daten der Tiefe, Futterangabe, Käfigdimensionen, Strömungsgeschwindigkeit und -richtung sowie der geographischen Positionierung wurde eine Sedimentationssimulation nach Hevia (1995) für diese Anlage durchgeführt (s. 4.2.2.). Dabei wurde eine Sedimentierungsgeschwindigkeit von 0,09 cm/s bei einer durchschnittlichen Pelletgröße von 38 mm angenommen. Die Ergebnisse wurden in gC Tag⁻¹ ermittelt.

3.2.3 Untersuchung zur Bakteriologie des Wassers und des Sediments

Aufgrund der sehr unterschiedlichen batimetrischen Gegebenheiten in der Wismarer und Ilque-Bucht waren einige Abwandlungen der mikrobiologischen Untersuchungen für jeden Standort erforderlich. Diese sind unter 3.2.3.1 bis 3.2.3.5 detailliert dargestellt.

Die Sedimentbeprobung erfolgte mit Hilfe eines 0,22 m² Bodengreifers. Damit konnte das Sediment in unmittelbarer Nähe der Flotille untersucht werden. Eine Probenentnahme in der Mitte der Flotille war nicht möglich. Der Einsatz spezieller Netze gegen Pinnipedia verhiinderten den Einsatz eines Bodengreifers. Wissenschaftliche Tauchereinsätze konnten nicht durchgeführt werden, da die notwendigen Sicherheitseinrichtungen für tiefe Tauchgänge (Druckkammer) nicht vorhanden waren.

Vom Bodengreifer wurden aseptische Proben durch sterile Spritzen (Brown 1991) gewonnen. Die Spritzen erlaubten die Beprobung einer exakten Sedimentmenge (1 cm³). Ein exaktes und konstantes Volumen war unbedingt notwendig, um die bakteriologischen Konzentrationen bestimmen zu können.

Tab. 4: Probenentnahmekalender und beprobte Stationen (Stationsnummern siehe Abb. 8.) in der Ilque Bucht im Bereich der Käfiganlage. ZoBell, TSA, ENDO-C und TCBS entsprechen den angewendeten bakteriellen Nährböden.

	23.3.95	11.4.95	20.4.95
Wassersäule:	1, 2, 3, 4 (alle Nährböden), Referenz (TCBS), Käfigmitte (ZoBell, ENDO-C, TSA)	1, 2, 3, 4, Käfigmitte (alle Nährböden), Referenz (nur TSA)	1, 2, 3, 4, Käfigmitte (alle Nährböden)
Sediment:	1,2,3,4 (TCBS, ZoBell, TSA)	1, 2, 3, 4, Referenz, (TCBS, ZoBell, TSA)	1, 2, 3, 4, Referenz (alle Nährböden)

3.2.3.1 Vorkommen einzelner Bakteriengruppen in der Ilque-Bucht

Wie in der Wismarer Bucht wurden auch hier die am häufigsten auftretenden Kolonienformen, die auf den Medien TCBS und TSA gewachsen waren, isoliert und beschrieben. Die Oxidase-negativen Stämme wurden dann durch das API-20E identifiziert. Die *Vibrio*/Aeromonaden wurden durch das Vibriostaticum-0/129 differenziert.

3.2.3.2 Zeitliche Veränderung

Da die Zielsetzung in der Anlage von Ilque darin bestand, kurzfristige Änderungen der bakteriologischen Sedimentpopulationen zu verfolgen, wurden Sedimentproben am 23.3.95 (Stationen 1, 2, 3 und 4), 11.4.95 und 20.4.95 (Stationen 1, 2, 3, 4 und Referenz) und Wasserproben am 23.4.95 (Stationen 1, 2, 3, 4 und Referenz) und am 11.4.95 (Stationen 1, 2, 3, 4, Käfigmitte und Referenz) gewonnen (Tab. 4). Die Proben wurden auf allen vier o.g.

Nährböden bebrütet. Sedimentproben wurden sofort 1/10 v/v in einer Kochsalzlösung verdünnt und in einer Kühlbox bis zur Analyse aufbewahrt (max. 4 Stunden). Die Proben der Wassersäule wurden mit einem selbst hergestellten, sterilisierten Probensammler (Brown 1991) in 1 m Tiefe entnommen.

3.2.3.3 Untersuchungen im Oberflächenbereich

Wie in der Wismarer Bucht wurde auch hier eine mikrobiologische Charakterisierung der Stationen im Einflußgebiet der Anlage vorgenommen. Die statistischen Auswertungen wurden mit Hilfe nicht parametrischer Analysemethoden (Zar 1996) durchgeführt. Es wurde jeweils das Vorliegen einer Normalverteilung der Datensätze durch einen Kolmogorov-Smirnov-Test überprüft. Hierbei wurden die Konzentrationsunterschiede der Bakterien zwischen den Sedimentstationen (Abb. 4) und zwischen den Medien durch Kruskal-Wallis- und Mann-Whitney-Tests mit 95 %er Konfidenz nachgewiesen. Die räumlichen und zeitlichen Untersuchungen wurden an den gleichen Probenentnahmetagen durchgeführt.

3.2.3.4 Untersuchungen im Vertikalprofil

Der erste und zweite Sedimentzentimeter der Stationen 1, 2, 3 und 4, sowie der erste Zentimeter der Referenzstation wurden am 20.4.95 untersucht. Die Sedimentproben wurden in einer Kühlbox bis zu deren Laboranalyse (max. 4 Stunden) aufbewahrt. Die Proben wurden auf den vier o.g. Nährböden im Labor bebrütet. Zusätzlich wurden am 21.4.95 Sedimentproben der Station 3 (erster bis fünfter Zentimeter), 8 m (erster bis vierter Zentimeter) und in 18m (erster Zentimeter) Entfernung von Station 3 auf dem TCBS-Medium untersucht

3.2.3.5 Antibiotikaresistenz

Es wurden Antibiogramme für die isolierten Stämme der Wassersäule und des Sedimentes mit den in Tab. 2 dargestellten Therapeutika nach Bauer *et al.* (1966) durchgeführt. Die Analysen wurden im „Laboratorio para la Salmonicultura“ der „Universidad Austral de Chile“ in Puerto Montt erstellt.

3.3 Datenerfassung zur Feststellung der Quelle erhöhter Bakterienkonzentrationen nach der Fütterung in der Kieler Förde

Von Juni bis August 1996 wurden ergänzende Untersuchungen zur Klärung der Frage über die möglichen Quellen einer bakteriellen Zunahme in der Wassersäule kurz nach der Fütterung in einer Käfiganlage (*O. mykiss*) in der Kieler Förde durchgeführt. Bei den Untersuchungen in der Wismarer Bucht wurde eine deutliche Konzentrationszunahme kurz nach der Fütterung in den Nährböden TSA, ZoBell und ENDO-C festgestellt (s. 4.1.3.4). Als mögliche Quelle dieser Zunahme wurde die Rolle der bakteriellen Ablösung von Netzen untersucht.

Durchgeführte Untersuchungen

Die Entstehung der Hypothese, daß die Verwirbelung während der Fütterung eine signifikante Ablösung der auf den Netzen haftenden Bakterien verursachen kann, beruht auf Beobachtungen, die in mehreren Anlagen gemacht wurden. Dabei wurde festgestellt, daß die Menge der Schwebstoffe im Wasser kurz nach der Fütterung deutlich anstieg. In den Anlagen, in denen nur eine Fütterung pro Tag durchgeführt wurde sowie in den Anlagen mit Biofouling auf den Netzen, war diese Schwebstoffsteigerung noch deutlicher zu erkennen.

Zur Überprüfung der Hypothese, ob die Verwirbelung während der Fütterung eine signifikante Ablösung der auf den Netzen haftenden Bakterien verursachen kann, wurden an fünf unterschiedlichen Stellen der Anlage 20 x 20 cm große, kommerzielle Netzstücke, die vorher gewaschen und autoklaviert wurden, außen an den Netzkäfigen in 1,5 m Tiefe befestigt. Es wurden vor und 10 min nach der täglichen Fütterung jeweils 4 cm lange Netzstücke davon abgeschnitten und in 2 %em Formaldehyd fixiert. Im Labor erfolgte dann eine elektronenmikroskopische Auswertung der Netzstücke (Zeiss DSM 940 Rasterelektronenmikroskop). Bei jeder Probe wurden für mindestens 35 Felder (je 285,23 μm^2) die Bakterienzahlen bestimmt.

Voruntersuchungen ergaben ein optimales „Netzalter“ von 14 Tagen, um die auf Netzstücken festhaftenden Bakterien gut zählen zu können. Vorher war die Dichte an Bakterien nicht hoch genug und zu einem späteren Zeitpunkt erschwerte die Kolonisierung anderer Organismen (vor allem Bryozoa) die Zählung. Daher wurden Netzstücke in 3 Intervallen analysiert: Intervall I: von Tag 1 bis 8, Intervall II: von Tag 9 bis 15 und Intervall III: von Tag 16 bis 18.

Für die Datenanalyse wurden die Zählungen der 5 Stationen für jeden Tag zusammenge-rechnet und die Ergebnisse in Bakterien/Feld dargestellt. Die Signifikanz der Konzentrationsänderung nach dem Futter wurde mittels des Mann-Whitney Tests (Zar 1996), mit einem Signifikanzniveau von $P < 0,05$ durchgeführt.

Tab. 5: Berechnung theoretisch zugesetzter und freigesetzter Stoffe in der Forellenzuchtanlage der Wismarer Bucht vor 1989 und 1994. (berechnet auf der Basis von Angaben von Dr. W. Jansen - Landesforschungsanstalt für Landwirtschaft und Fischerei Mecklenburg/Vorpommern - Institut für Fischerei-).

	vor 1989	1994
Produktion	ca. 300 t / Jahr	ca. 40 t / Jahr *
Futterkonversionsindex	2,5	1,2
Futтереingabe	750 t / Jahr	44 t / Jahr
Phosphorgehalt	1,5 %	0,9 %
Phosphoreingabe	11250 kg / Jahr	395 kg / Jahr
Phosphorfreisetzung #	10050 kg / Jahr	236 kg / Jahr
Stickstoffgehalt	8,0 %	6,2 %
Stickstoffeingabe	60000 kg / Jahr	2700 kg / Jahr
Stickstofffreisetzung	51000 kg / Jahr	1528 kg / Jahr

* Erwartete

Berechnet nach Ackefors & Enell (1994)

Die Fische wurden in Wismar mit dänischen Pellets einmal pro Tag morgens gefüttert. Die Fütterung wurde bei hoher Trübung des Wassers oder bei extrem hohen Temperaturen (hauptsächlich im Juli) eingestellt. Der Phosphorgehalt der Futtermittel betrug 0,9 % und der Stickstoffgehalt 6,2 % des Gesamtgewichts der Futtermittel (Tab. 5).

In der Produktionssaison 1994 kam es zu keinen nennenswerten Krankheitsausbrüchen. Auf die Verwendung von Antibiotika konnte daher verzichtet werden. Dennoch war im Juli aufgrund der hohen Temperaturen und der damit auftretenden Sauerstoffzehrung eine hohe Mortalität zu verzeichnen, da in diesem Sommer die Temperaturtoleranzgrenze für Forellen zeitweise überschritten wurde.

Bei der Auswertung der Videoaufnahmen konnte festgestellt werden, daß es durch die auf den Sedimenten liegenden Netze teilweise zur Aufwirbelung und Resuspension vom Sediment bei der Rotation der Käfige um die Verankerung kommt. Dies führte zeitweise zu einer starken zusätzlichen Belastung mit organischem Material und Sedimentbakterien im Wasser der Käfiganlage.

Tab. 6: Produktionscharakteristika der Forellen-Käfiganlage in der Wismarer Bucht (berechnet auf der Basis von Angaben von Dr. W. Jansen - Landesforschungsanstalt für Landwirtschaft und Fischerei Mecklenburg/Vorpommern - Institut für Fischerei-).

Kultivierte Art	<i>Oncorhynchus mykiss</i>
Gesamtproduktion	ca. 40 t*
Produkt. untersuchte Flotille	ca. 20 t (1994)*
Vol. untersuchte Flotille	ca. 96 m ³
Monatliche Futterzugabe	ca. 360 kg
Käfig-Verankerung	Rotierendes System
Mortalität	> 60 % pro Jahr
Futterkonversions-Index	1,1-1,2 #*

* erwartet

Produzentenangabe

4.1.2 Physikalische und chemische Variablen, Benthos

Die Umweltzustandsbeurteilung in der Nähe der Wismarer Anlage geschah mittels standardisierter Methoden. Diese beinhalten eine Reihe von Variablen in der Wassersäule und im Sediment, wonach sich der ökologische Zustand am Standort klassifizieren läßt.

Tiefe, Temperatur und Salzgehalt:

Die Wismarer Bucht hat eine mittlere Tiefe von 5,5-6 m (Prena 1990; Jansen *et al.* 1993). Am Standort der Anlage betrug die Tiefe zwischen 4,5 und 5,3 m. Tiefen bis 4 m wurden bei starkem Südwind gemessen, was auf die Seichesbewegungen in der Ostsee zurückzuführen ist. Aufgrund der geringen Wassertiefe und der unregelmäßigen und stark wechselnden Wasserbewegung am Standort wurde im Sommer keine Temperaturschichtung im Wasser beobachtet. Es wurden große Schwankungen der Wassertemperatur während des Untersuchungszeitraums beobachtet (Abb. 9). Es wurden minimale Temperaturen von ca. 2°C im Januar und maximale Temperaturwerte von 26,4°C im Juli registriert (Daten teilweise vom Ministerium für Bau, Landesentwicklung und Umwelt Mecklenburg-Vorpommern LUM-MV).

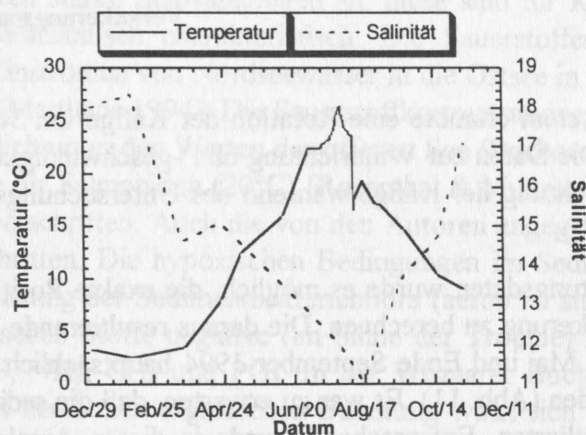


Abb. 9: Wassertemperaturen und Salzgehalt in der Wismarer Bucht 1994. (Teilweise berechnet auf der Basis von Angaben vom LUM-MV).

Die Salzgehaltswerte bewegten sich 1994 zwischen 11,1 und 18,3 (Daten teilweise vom LUM-MV). Die maximalen Werte wurden im Winter und die niedrigsten im Sommer nachgewiesen (Abb. 9). Die übernormalen Salinitäten im Winter deuten auf einen erheblichen Einstrom salzreichen Wassers aus der Nordsee hin (Matthäus 1993; LUM-MV 1994).

Windrichtung und -geschwindigkeit:

Für die Wismarer Bucht war es nicht immer möglich, einen vollständigen Datensatz für Strömungsrichtung und -geschwindigkeit zu erhalten. Grund dafür waren die geringe Tiefe, die eine optimale Installation der Strömungsmesser unmöglich machte, sowie die langsa-

men Wasserbewegungen, die trotz ihrer Kontinuität, unter den Meßbereichen des angewendeten Gerätes lagen (1 cm/s).

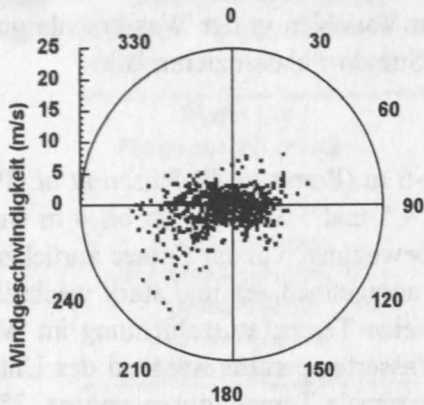


Abb. 10: Windrichtung und -geschwindigkeit in der Wismarer Bucht vom 1. Mai bis 30. September 1994. Jeder Punkt entspricht dem täglichen Mittelwert von vier Messungen. Daten des Wetteramtes Hamburg.

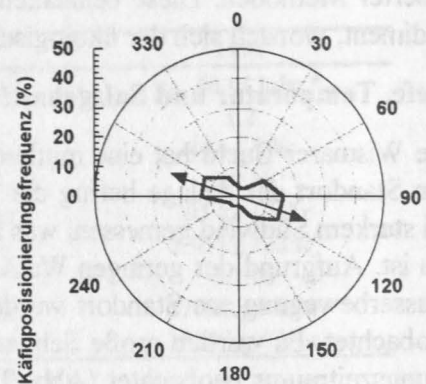


Abb. 11: Relative Häufigkeit (%) der horizontalen Ausrichtungen der Käfige in der Wismarer Bucht von 1. Mai 1994 bis 30. September 1994. Der Pfeil beschreibt die mittlere Richtung, in der die Käfige vom Verankerungspunkt aus angeordnet waren.

Das Verankerungssystem erlaubte eine Rotation der Käfige um 360° in Abhängigkeit von der Windrichtung. Die Daten zur Windrichtung und -geschwindigkeit für das Jahr 1994 ließen es zu, die Ausrichtung der Käfige während des Untersuchungszeitraumes rückwirkend zu ermitteln (Abb. 10).

Durch die Windrichtungsdaten wurde es möglich, die exakte Position der Käfige in Beziehung zu ihrer Verankerung zu berechnen. Die daraus resultierende Frequenz zeigt, daß sich die Käfige zwischen Mai und Ende September 1994 hauptsächlich im dem Sektor 60-120° und 270-300° befanden (Abb. 11). Es war zu erwarten, daß die sedimentierten Stoffe in diesen Arealen akkumulierten. Entsprechend wurde in diesen Arealen die Sedimentuntersuchung besonders intensiv durchgeführt.

Sauerstoffkonzentration und -sättigung:

Im Untersuchungszeitraum traten Schwankungen des Sauerstoffgehaltes zwischen 7,6 und 14,9 mg O₂/l auf. Die Sauerstoffsättigung lag zwischen 84 % und 128 %. Die graphische Darstellung enthält Daten der LUM-MV (pers. Mitteilung) und eigene Messungen (Abb. 12). Vom Betreiber der Anlage wurde berichtet, daß im Juli plötzlich eine starke Sauerstoffzehrung einsetzte, die zu kritischen Sauerstoffbedingungen für die Fische in den Käfigen führte. Dieses Ereignis wurde jedoch nicht in einer Messung festgehalten.

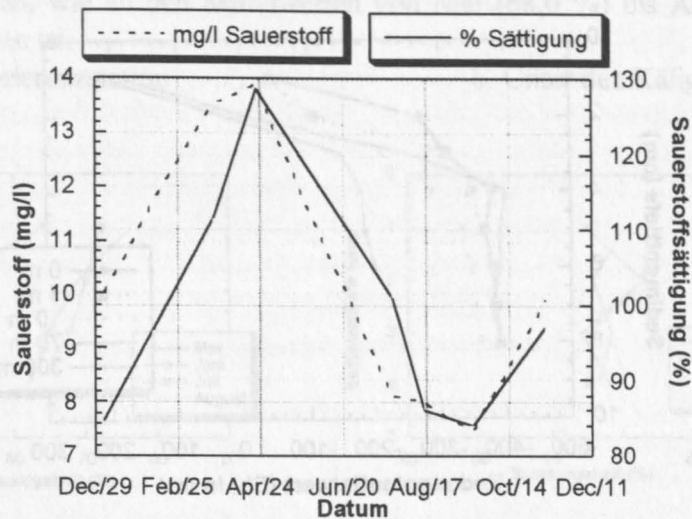


Abb. 12: Sauerstoffsättigung und -konzentration in der inneren Wismarer Bucht 1994. (Teilweise berechnet auf der Basis von Angaben vom LUM-MV).

Die Sauerstoffwerte zeigten starke Schwankungen an, diese sind für Küstengewässer der Ostsee mit wenig Wasseraustausch charakteristisch. Die Sauerstofferneuerung erfolgte hauptsächlich durch das Einstromen von Nordseewasser in die Ostsee in mehr oder weniger regelmäßigen Abständen (Matthäus 1994). Die Sauerstoffkonzentrationen liegen im Inneren der Wismarer Bucht deutlich unter den Werten der offenen See (Bachor 1990). Die zulässige Temperaturobergrenze für Salmoniden (20°C) (Rosenthal & Munro 1985) wurde für einen längeren Zeitraum überschritten. Auch die von den Autoren angegebenen letalen Temperaturen wurden überschritten. Die hypoxischen Bedingungen im Sediment im Spätsommer führen zu einer Umstellung der Sedimentbakterienflora (aerob zu anaerob), was für die Mineralisation der organischen Stoffe negative (im Sinne der Trophie) Auswirkungen hat; z.B. Freisetzung von H_2S , NH_3 , CH_4 und PO_4 . In der Wismarer Bucht mit ihrem hohen Anteil an Nährstoffen und der hohen organischen Belastung wirkt sich dieser Umstand im grundnahen Wasserkörper stärker aus als an der Oberfläche (Bachor 1990).

Profil des Redoxpotentials im Sediment:

Für Juli 1994 zeigte das Profil des Redoxpotentials an der Referenz- und an den Käfigen-Stationen (0 m und 5 m Entfernung) typische Werte (Krost *et al.* 1994) für Sedimente, die unter starker organischer Sedimentation leiden (Abb. 13). Negative Eh-Werte an der Oberfläche waren jedoch auf die direkte Umgebung der Käfige (< 10 m) beschränkt. In den oberen Bereichen der Stationen 70 m und 300 m von den Käfigen entfernt, traten positive Eh-Werte, d.h. eine Tendenz zu aeroben Prozessen, auf. Stark reduzierte Sedimente konnten bereits während der Sedimententnahme an ihrem starken H_2S -Geruch erkannt werden.

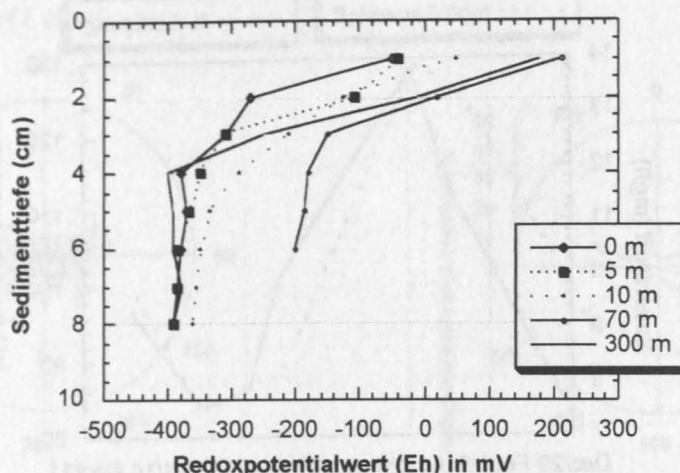


Abb. 13: Redoxprofil des Sediments in verschiedenen Sedimenttiefen und Entfernungen von der Käfiganlage Wismar im Juli 1994.

Im August 1994 (Hochsommer) war das Redoxpotentials der obersten Schicht der Referenzstation negativer als im Juli. Der Kurvenverlauf in verschiedenen Sedimenttiefen war an der Referenzstation und an der Käfigstation in etwa gleich. Es stellte sich jedoch heraus, daß im ersten Sedimentzentimeter die stärkste Abnahme des Redoxpotentials im Bereich der Käfige auftrat, wobei an der Referenzstation diese zwischen dem ersten und zweiten Zentimeter gemessen wurde (Abb. 14). Die negativen Eh-Werte an der Referenzstation im August weisen auf einen erhöhten Trophiegrad in der Wismarer Bucht hin, der saisonal bedingt sein kann, wie es von Pearson und Stanley (1979) für organisch belastete Areale beschrieben wurde.

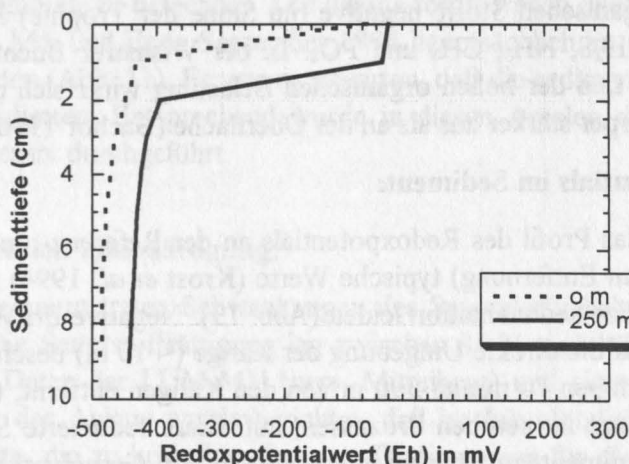


Abb. 14: Redoxprofil des Sediments in verschiedenen Sedimenttiefen unter der Käfiganlage und in einer Entfernung von 250 m von der Käfiganlage Wismar im August 1994.

Wassergehalt und Glühverlust im Sediment:

Während des gesamten Untersuchungszeitraumes bewegte sich das Interstitialvolumen des Wassers im Sediment der Referenzstation zwischen 50,2 % und 76,4 (Abb. 15 a und b, Tab. 7). Der Wassergehalt nahm erwartungsgemäß mit der Sedimenttiefe parallel zur steigenden

Nach dem Wassergehalt zu urteilen, sind im Juli die Stationen am alten Standort (70 m), die etwa ein Jahr vor der Beprobung aufgegeben worden waren und 10 m entfernt von den Käfigen als belastete Areale einzustufen. Die Station unter den Käfigen war durch einen geringeren Wasseranteil gekennzeichnet, weil der mechanische Einfluß der Netze möglicherweise eine Rolle bei der Verwirbelung des Sediments in den ersten Zentimetern spielte. Die Referenzstation zeichnete sich wie erwartet durch einen geringeren Wasseranteil aus. In der Entfernung von 5 m wurde ein geringerer Wasseranteil als in der Entfernung von 10 m und 70 m festgestellt. Auch in den tieferen Schichten ist eine direkte Beziehung zwischen Wasseranteil und Entfernung zu den Käfigen zu beobachten (Abb. 16).

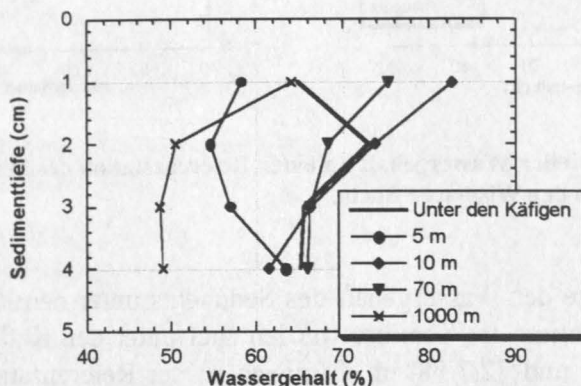


Abb. 16: Profile der interstitiellen Wassergehalte (%) des Sediments im Juli unter den Käfigen und in verschiedenen Entfernungen zu der Käfiganlage.

Der Glühverlust des Sediments an der Referenzstation war im Zeitraum Mai - Juni höher als im Juli - September. Dies weist auf einen Netto-Export organischen Materials vom Sediment in die Wassersäule im Frühjahr und Anfang Sommer hin (Tab. 8).

Tab. 8: Glühverlust aus verschiedenen Sedimenttiefen und an verschiedenen Stationen der Wismarer Bucht. Station 1 = unter den Käfigen; 2 = alter Standort der Anlage (1993); Referenzstation = 1000 m von den Käfigen entfernt.

Stationen	Tiefe (cm)	Mai	Juni	Juli	August
Glühverlust (%)					
1	1	12,7	16,9	9,6	21,3
1	2	17,3	16,9	11,7	13,8
1	3	15,9	12,0	12,0	8,3
1	4	15,4	14,4	10,8	11,3
2	1	10,5	5,3	12,5	*
2	2	10,9	6,4	11,4	*
2	3	11,6	7,9	11,7	*
2	4	12,9	6,1	11,7	*
Referenz	1	15,2	14,2	7,4	7,9
Referenz	2	14,8	14,3	5,5	4,9
Referenz	3	13,4	14,0	5,2	4,9
Referenz	4	11,7	13,2	7,0	5,5

* Keine Probe gewonnen

Unter den Käfigen war im Sommer eine leichte Abnahme des Gehalts an organischem Material festzustellen. Im Mai betrug der Glühverlust der Proben in einer Sedimenttiefe von 1-4

cm unter den Käfigen durchschnittlich 15,3 %. Dieser Wert sank bis August auf 13,7 % ab. Die ständige Sedimentation unter den Käfigen im Sommer erlaubte keine vollständige Remineralisierung der organischen Stoffe, wodurch die hohen Werte erhalten blieben. Bakterienmatten des *Beggiatoa* - Typs wurden ab Juni im Sediment unter den Käfigen gefunden. Solche Bakterienmatten sind charakteristisch für organisch hochbelastete anoxische Bereiche. Diese Matten wurden im Juli - August durch eine feste braune Kruste ersetzt (vermutlich Diatomeen und Bakterien), was eine Isolierung des Sediments hinsichtlich Import und Export organischen Materials zur Folge gehabt haben kann. Unter dieser „Kruste“ war das Sediment anoxisch und der mechanische Einfluß der sich mit Wind und Strömung über den Grund bewegenden Käfige erlaubte keine Ausbreitung von Makrophyten.

Der Glühverlust der Sedimentproben zeigte zwei vertikale Verteilungstypen. An der Referenzstation wurden kaum Unterschiede in den verschiedenen Sedimenttiefen nachgewiesen. An der Station unter den Käfigen war der Unterschied dagegen größer. Dies ist vermutlich auf den hohen organischen Anteil an der Sedimentoberfläche zurückzuführen, der wiederum mit der starken Sedimentation unter den Käfigen und der mechanischen Zerstörung der Schichtung durch die Bewegung der Netze zusammenhängt (Abb. 17).

Auch am alten Standort wurde ein höherer Glühverlust nachgewiesen. Eine mögliche Erklärung dafür stellt die Akkumulation von sedimentierten organischen Stoffen dar, die in einer eutrophierten Bucht (geringe Sauerstoffkonzentrationen) längere Zeit brauchen, um vollkommen remineralisiert zu werden (Beveridge 1996).

a. Referenzstation

b. Unter den Käfigen

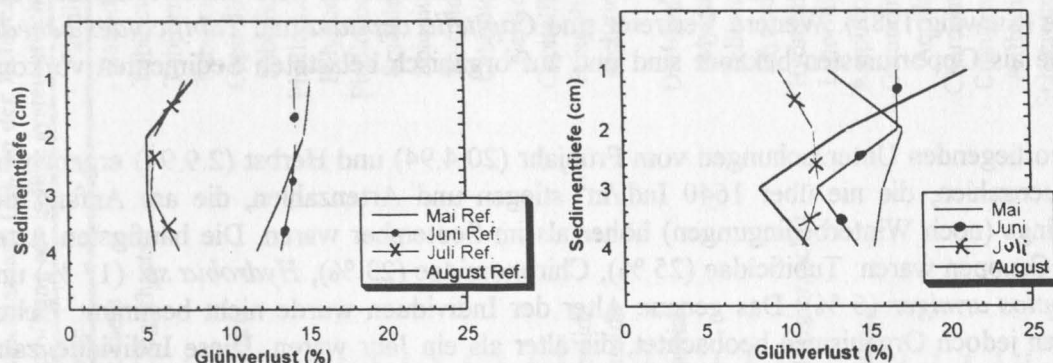


Abb. 17 a-b: Glühverlust (%) der Sedimentproben von der Referenzstation (a) und unter den Käfigen (b) in der Wismarer Bucht.

Im Juli wurde zudem eine Charakterisierung des organischen Gehalts des Sediments vorgenommen, wobei durch eine dichtere Probenentnahme Unterschiede innerhalb eines engen Raumes um die Käfige herum eingehender untersucht und die Auswirkung der Sedimentation hier vollständiger erfaßt wurden. Es stellte sich heraus, daß in der Umgebung der Käfige eine heterogene Verteilung des organischen Materials vorliegt (Abb. 18). Ebenfalls zu erkennen ist, daß am alten Standort noch ein erheblicher Anteil an organischem Material verfügbar ist.

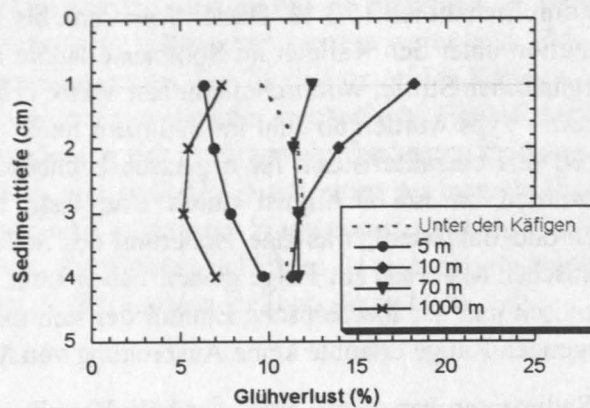


Abb. 18: Profil des Glühverlustes (%) des Sediments im Juli unter den Käfigen und in verschiedenen Entfernungen von der Käfiganlage.

Vorkommen und Verteilung von Makrozoobenthos:

Die Besiedlung der Wismarer Bucht mit Makrozoobenthos wurde bereits bei Prena (1987, 1990) und Prena & Gosselck (1989) umfassend beschrieben. Proben zur Einschätzung der Interaktionen des Benthos mit den Belastungen aus Fischkäfiganlagen wurden bisher noch nicht in einem derartig brackigen Flachwasserhabitat durchgeführt. Die gefundenen Benthosarten unter den Käfigen und an der Referenzstation, sind in Tab. 9 zusammengefasst. Es ist zu erkennen, daß typische Organismen, die eine organische Belastung anzeigen, hier nicht nur unter den Käfigen vorkommen, sondern auch an der Referenzstation. Diese typischen Arten sind z.B. *Halicryptus spinulosus*, ein Anzeiger für sehr sauerstoffarme Sedimente (Siewing 1985). Weitere Vertreter sind *Capitella capitata* und *Tubificoides benedeni*, die als Opportunisten bekannt sind und auf organisch belasteten Sedimenten vorkommen.

Die vorliegenden Untersuchungen vom Frühjahr (20.4.94) und Herbst (2.9.94) ergaben Individuenzahlen, die nie über 1640 Ind./m² stiegen und Artenzahlen, die am Anfang des Frühlings (noch Winterbedingungen) höher als im September waren. Die häufigsten Arten bzw. Gruppen waren: Tubificidae (25 %), Chironomidae (23 %), *Hydrobia sp.* (17 %) und *Scoloplos armiger* (6 %). Das genaue Alter der Individuen wurde nicht bestimmt. Selten wurden jedoch Organismen beobachtet, die älter als ein Jahr waren. Diese Individuenzahl- und Biomassedaten stimmen nicht mit dem Befund von Prena (1990) überein. Er beobachtete eine maximale Individuenzahl von Herbst bis Anfang des Frühlings (maximal 10000 Ind./m²) und eine maximale Biomasse im Sommer. Die von ihm gefundenen wichtigsten Faunenkomponenten variierten zwischen *Chironomiden*, *Scoloplos armiger*, *Tubificoides benedeni*, *Hediste diversicolor*, *Cerastoderma lamarcki* und *Macoma balthica*.

Mikroorganismen als mögliche Indikatoren zur Beurteilung des Wasser- und Sedimentzustandes im Bereich küstennaher Zuchtanlagen für die Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*)

Tab. 9: Liste der im Umfeld der Fischzuchtanlage (K), an der Referenzstation (R), 50 m von den Käfigen entfernt (50) und 100 m von den Käfigen entfernt (100) gefundenen Arten der Makrofauna sowie ihre systematische Zuordnung. (Nach unveröffentlichten Daten von Jansen, 1996).

Stamm	Klasse	Familie	Art	20.4.94	2.9.94
Annelida	Oligochaeta	Naididae	<i>Paranais litoralis</i>	50	R
„	Clitellata; Oligochaeta	Tubificidae	<i>Tubifex costatus</i>	K 50 100	R
„	„	Tubificidae	-	R 50 100	R K 50 100
„	„	Tubificidae	<i>Tubificoides benedeni</i>	K 50 100	R
„	Polychaeta	Capitellidae	<i>Capitella capitata</i>	R K 50 100	R K 50 100
„	„	Sabellidae	<i>cf. Fabriciella balthica</i>	R	R 100
„	„	Phyllodocidae	<i>Eteone longa</i>	R 100	K
„	„	Polynoidae	<i>Harmothoe impar</i>	100	
„	„	Phyllodocidae	<i>Phyllodoce mucosa</i>	K 100	
„	„	Spionidae	<i>Polydora ligni</i>	50 100	K 50
„	„	Spionidae	<i>Pygospio elegans</i>	R 100	R K 50 100
„	„	Spionidae	<i>Streblospio shrubsoli</i>		100
„	„	Orbiniidae	<i>Scoloplos armiger</i>	R 100	R K 50 100
„	„	Nereida	<i>Hediste diversicolor</i>	R 50 100	R K 50 100
„	„	Capitellidae	<i>Heteromastus filiformis</i>	R K 100	R K 50 100
Nemathelminthes	Priapulida	Priapulidae	<i>Halicryptus spinulosus</i>		K 100
Echinodermata	Echinoida	Mellitidae	<i>Mellita palmata</i>	50 100	
Nemertini	-	-	-	R K 50 100	R K 50 100
Mollusca	Bivalvia	Dreissenidae	<i>Cerastoderma lamarcki</i>	R K 100	R 100
„	„	Myidae	<i>Mya arenaria</i>	K 100	R K 100
„	„	Tellinidae	<i>Macoma balthica</i>	R K 100	R K
„	„	Mytilidae	<i>Mytilus edulis</i>	R K 50 100	R K 100
„	Gastropoda; Prosobranchia	Hydrobiidae	<i>Hydrobia sp.</i>	R K 50 100	R K 50 100
„	„	Littorinidae	<i>Littorina sp.</i>	50 100	100
Arthropoda	Crustacea	Ampithoidae	<i>Ampithoe rubricata</i>	50	50 100
„	„	Gammaridea	<i>Gammarus sp.</i>	100	R
„	„	Aoridae	<i>Microdeutopus gryllotalpa</i>	R 50 100	R K 50 100
„	„	Corophiidae	<i>Corophium volutator</i>	100	
„	„	Crangonidae	<i>Crangon crangon</i>	50 100	R
„	„	Anthuridae	<i>Cyathura carinata</i>	R K 100	R
„	Crustacea/Malacostraca	Sphaeromatidae	<i>Sphaeroma hookeri</i>	50	
„	„	Parasellidae	<i>Jaera albifrons</i>	R K 50 100	R 100
„	„	Idoteidae	<i>Idotea sp.</i>	R K 50 100	R K 50 100
„	Insecta	Chironomidae	-	R K 50 100	R K 50 100

4. Ergebnisse

Tab. 10: Auswirkungen der Käfigkultur in der Wismarer Bucht am Beispiel der vagilen Makrobenthosfauna. Diversitäts- und Abundanzindex am 20.4.94 und 2.9.94 direkt unter den Käfigen, an der Referenzstation sowie an den Stationen 100 m und 50 m von den Käfigen entfernt. Individuenzahl (Ind./m²); Biomasse (g/m²); Artenzahl (n/Holl).

Datum	Referenzstation				100 m Entfernung von den Käfigen				50 m Entfernung von den Käfigen				Unterhalb der Käfige			
	20.4.94		2.9.94		20.4.94		2.9.94		20.4.94		2.9.94		20.4.94		2.9.94	
Individuenzahl	1553		1640		1180		1280		653		1600		1035		440	
Biomasse	17		180		11		165		5		557		8		19	
Holl	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Artenzahl	16	13	22	18	14	17	22	20	9	8	18	16	16	11	12	13
Simpson	1.6	2.5	3.6	5.3	4.1	3.8	5.3	1.9	2.3	1.7	2.4	3.4	3.8	1.0	1.7	2.6
Shannon-Wiener	1.4	1.5	1.8	2.0	1.8	1.8	2.1	1.6	1.4	1.2	1.6	1.8	1.8	1.0	1.4	1.5

Arten und Individuenzahl:

Wie in Tab. 10 ersichtlich, sind sowohl unter der Käfiganlage als auch auf der Referenzstation eine Vielzahl von Arten anzutreffen. Die Individuenzahl betrug für beide Untersuchungen zwischen 440 und 1640 Ind./m² (Tab. 10). Obwohl im Frühling noch keine Käfige im Betrieb waren, ist ein Unterschied in der horizontalen Verteilung der Individuenzahl zu beobachten. Je geringer die Entfernung zu den Käfigen, desto kleiner war die Individuenzahl. Die geringste Konzentration wurde in einer Entfernung von 50 m festgestellt. Das kann dadurch erklärt werden, daß alte Produktionsstandorte in den untersuchten Bereichen liegen, wobei sich einige in der Wiederaufbauphase zum „normalen Zustand“ befanden. Im Herbst 1994 war ein stärkerer Unterschied der horizontalen Verteilung als im Frühjahr feststellbar. Die Individuenanzahl nahm in der Nähe der Käfige ab, wobei in einer Entfernung von 50 m eine größere Individuendichte als im Käfigbereich festgestellt wurde. Daher konnten die bedeutendsten saisonalen Schwankungen der Individuenanzahl in einer Entfernung von 50 m von den Käfigen beobachtet werden. An der Referenzstation und in einer Entfernung von 100 m von den Käfigen wurden an beiden Tagen die gleiche Menge an Ind./m² gezählt. Die niedrige Individuenanzahl unter den Käfigen wurde möglicherweise durch die Sedimentation organischen Materials und durch mechanische Beeinflussung des Sediments durch die Netze hervorgerufen. Prena (1990) führte 1989 in der gesamten Wismarer Bucht einer Individuenzahlanalyse durch, deren Mittelwert 12000 Ind./m² betrug.

Biomasse:

Die Biomasse der Makrozoobenthos betrug in beiden Untersuchungen zwischen 5 und 557 g/m² (Tab. 10). Es waren starke saisonale Unterschiede zu beobachten (Abb. 20), weil sich die Biomassen an allen Stationen im April (Frühling) und September (Herbst) signifikant unterschieden ($P=0,015$). Die im April 1995 beobachteten Unterschiede in den Individuenzahlen waren nicht relevant hinsichtlich der Biomasse. Es sind zwei Faktoren zu erwähnen: 1. Ein „Winter-Effekt“ - die meisten Meeresorganismen hatten noch nicht das Adultgewicht erreicht. 2. Da die Fischzuchtanlage erst im Mai 1994 wieder in Betrieb gesetzt wurde, war die Sedimentation noch gering. Im Herbst dagegen war ein deutlicher horizontaler Unterschied zu beobachten, wobei sich die Konzentrationen der Referenzstation und der Station in einer Entfernung von 100 m nicht signifikant unterschieden. 50 m von den Käfigen entfernt war ein signifikanter Anstieg in der Biomasse zu verzeichnen, der unter den Käfigen wiederum bis auf 19 g/m² abnahm. Prena (1990) fand in demselben Gebiet eine feuchte Biomasse mit dem Mittelwert von 690 g/m².

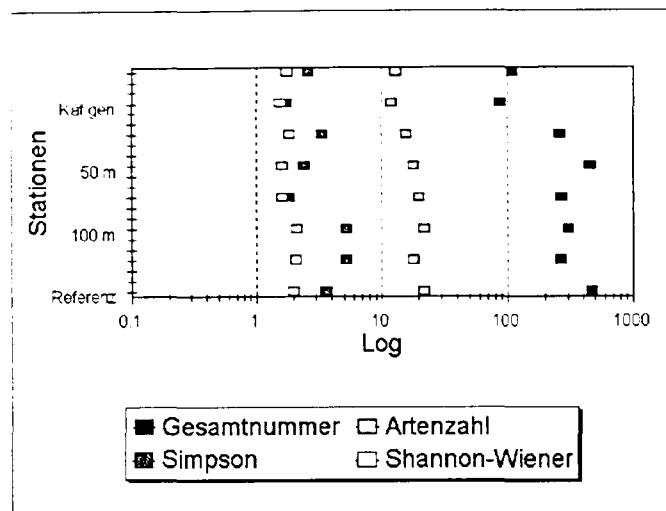


Abb. 19: Darstellung der Diversitätsanalyse der Sedimentmakrofauna in der Wismarer Bucht. Probenentnahme an der Referenzstation, in einer Entfernung von 100 m, in einer Entfernung von 50 m und direkt unter den Käfigen im Frühjahr 1994.

Die Diversitätsindizes (Shannon-Wiener und Simpson) ergaben keine deutlichen saisonalen Unterschiede. Dies geschah möglicherweise aufgrund der noch vorhandenen Winterbedingungen zum Zeitpunkt der Probenentnahme im Frühjahr. Beide Indizes ergaben keine signifikanten Unterschiede ($P > 0,05$) hinsichtlich der Distanz zur Anlage. Der Shannon-Wiener-Index spiegelte dabei besser als der Simpson-Index den Einfluß des Sedimentzustandes auf die Abundanz und Diversität der Makrofauna wieder (Abb. 19 und Abb. 20).

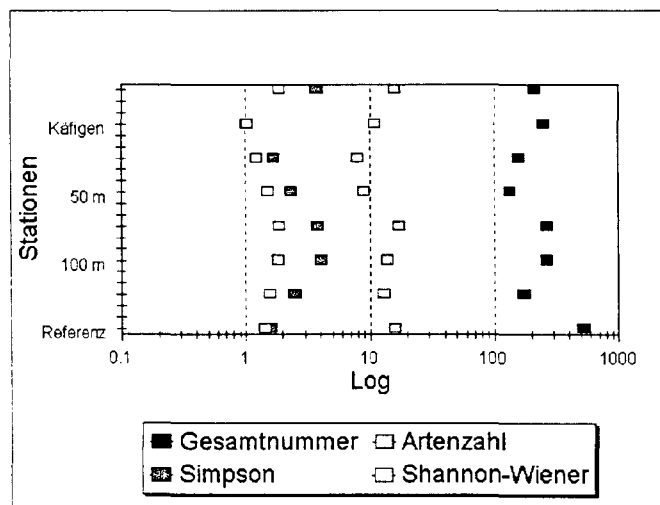


Abb. 20: Darstellung der Diversitätsanalyse der Sedimentmakrofauna der Wismarer Bucht. Probenentnahme an der Referenzstation, in einer Entfernung von 100 m, in einer Entfernung von 50 m und direkt unter den Käfigen im Herbst 1994.

4.1.3 Untersuchung zur Bakteriologie des Wassers und des Sediments

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der mikrobiologischen Experimente dargestellt. Zuerst wurde eine Identifizierung der auf den TSA- und TCBS-Medien häufig vorkommenden Arten durchgeführt (4.1.3.1). Unter 4.1.3.2 wird die zeitliche und horizonatale Änderung der Konzentrationen auf den vier o.g. Medien betrachtet. Im Neuston finden wichtige ökologische und pathologisch- bakterielle Prozesse statt. Deswegen wurde dieser Grenzschicht im Bereich der Käfiganlage besondere Aufmerksamkeit gewidmet (4.1.3.3). Außerdem wurde auch die vertikale Verteilung der Bakterien im Sediment betrachtet, um den Effekt der Fischzucht auf die benthischen Bakterienpopulationen zu bestimmen. Zudem wurde die Herkunft dieser Bakterien untersucht. Unter 4.1.3.4 ist die Untersuchung von Fütterungseffekten dargestellt. Hierbei wurde vor allem die starke Wasserturbulenz als Resultat der Fütterungsvorgänge betrachtet. Im Aug./Sept. wurde die Verteilung der Bakterienkonzentrationen in der direkten Umgebung der Anlage täglich untersucht (4.1.3.5), um mögliche bakterielle Einträge aus der Umgebung identifizieren zu können. Punkt 4.1.3.6 beinhaltet die bakteriologische Charakterisierung der Wismarer Bucht. Es wurden Beprobungen entlang eines Transektes in der Wismarer Bucht durchgeführt, um möglicherweise vorhandene Gradienten zu erfassen. Unter 4.1.3.7 ist die Messung der Resistenzentwicklungen isolierter Keime dargestellt.

4.1.3.1 Vorkommen einzelner Bakteriengruppen in der Wismarer Bucht

Die häufigsten Kolonien, die auf den vier angewandten Medien kultiviert werden konnten, wurden beschrieben und fotografiert bzw. gezeichnet. Vorkommen und Häufigkeit an jeder Station sind in Kapitel 4.1.2.3 dargestellt. Mit Hilfe des API-20E-Testes konnten einige isolierte Keime bis auf das Artniveau bestimmt werden.

Das TCBS-Medium ist speziell zur Isolierung der Bakterien der Gattung *Vibrio* (Kobayashi 1963) geeignet, wobei *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* und *V. alginolyticus* besonders gut auf ihm wachsen. *V. ordalii* kann sich auf dem TCBS-Medium nicht entwickeln. Das Medium hemmt deutlich die Entwicklung von *Pseudomonas* sowie die Entwicklung der meisten *Aeromonas*-Arten (Sakazaki & Balows 1981) und einiger Gram-positiver Bakterien.

Wie bei Ullrich (1992) empfohlen, wurde bei den Untersuchungen zur Anzucht von *Aeromonas* und *Vibrio* der Tryptose-Soy-Agar verwendet, ein zur Anzucht vieler auch anspruchsvoller Mikroorganismen geeignetes Medium.

Auf diesen beiden Medien haben sich im Test folgende Gruppen bzw. Arten entwickeln und nachweisen lassen:

Aeromonas sobria, *Aeromonas hydrophyla/caviae*, *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio* sp., *Enterobacter* sp., *Serratia* sp., *Proteus* sp., *Tatumella ptyseos*, *Acinetobacter* sp., *P. fluorescens*, *Pseudomonas* sp. und *Alcaligenes* sp.

Diese Arten gehören mehreren Familien an. Sie werden taxonomisch eingeordnet, ihre biochemischen Eigenschaften zusammengefaßt und ihre Kolonienform beschrieben. Die Bedeutung der einzelnen Gruppen für die Aquakultur wird nach den bisherigen Erkenntnisse dargestellt.

A. Familie: Vibrionaceae

Die Familie Vibrionaceae besteht aus den Gattungen *Aeromonas*, obwohl Colwell *et al.* (1986) aufgrund molekularer Untersuchungen die Errichtung der Familie Aeromonadaceae vorschlugen, *Vibrio*, *Plesiomonas*, *Photobacterium* und *Lucibacterium*. Es handelt sich um Gram-negative Bakterien, die gerade oder gebogen sein können, und sich in der Regel mit Hilfe polarer Geißeln fort bewegen. Sie sind chemoorganotroph, und fakultative anaerob sowie Cytochromoxydase-positiv. Im aquatischen Lebensraum sind sie ubiquitär (Schlotfeldt 1985).

Charakterisierung der Gattung *Aeromonas*:

Viele Arten der Gattung werden als Krankheitserreger bei Fischen beschrieben. Es gibt zwei Hauptgruppen, die psychrophilen, nicht mobilen (*A. salmonicida*) und die durch Geißeln mobilen Aeromonaden. Die Gattung *Aeromonas* ist fakultativ anaerob und stellt durch Gärung Oxidase und Catalase her. Die *Aeromonas* die zur mobilen Gruppe gehörten waren mesophile Arten, die gut bei einer Temperatur von 35°C wuchsen. Die Gattung *Aeromonas* ist resistent gegen das Vibriostaticum-O/129 (2,4-diamino-6,7-diisopropyl pteridine phosphate) (Sakazaki & Balows 1981; Ullrich 1992; Inglis *et al.* 1994).

Aeromonas sobria

Wichtige Merkmale der Art für die Aquakultur: Diese Art ist als sekundären und wahrscheinlich als primärer Erreger für die Auslösung der hämorrhagischen Septikämien und Schwanz- und Flossenfäule verantwortlich (Austin & Austin 1987; Ullrich 1992). Austin & Austin (1987) untersuchten die Pathogenität für *O. mykiss* experimentell. *A. sobria* tritt ubiquitär in allen Gewässern auf, ausgenommen jener, die sich durch sehr hohe Salinitäten auszeichnen. Mobile Aeromonaden sind besonders abundant in organisch belasteten Gewässern (Inglis *et al.* 1994).

Kolonienform des Stammes 1: Der Stamm 1 entwickelte auf dem TCBS-Medium gelbe, verzweigte Kolonien, die nicht einfach aus der Platte zu lösen waren (Abb. 23).

Kolonienform des Stammes 2: Der Stamm 2 entwickelte auf dem TSA-Medium weiße, flache Kolonien mit einem Durchmesser von ca. 0,4 cm. Es wurden Subkreise gebildet (Abb. 23).

Aeromonas salmonicida

Wichtige Merkmale der Art für die Aquakultur: *A. salmonicida* ist der Erreger der Furunkulose, die bedeutendsten bakteriellen Krankheitsform bei Salmoniden. Diese Bakterium ist obligat pathogen und kann nur kurze Zeit außerhalb seines Wirtes überleben (Austin & Austin 1987). Turrell & Munro (1988) zeigten mit einem Simulationsmodell, daß *A. salmonicida* in einem Umkreis von 10 km andere Anlagen noch gefährden konnte. Dieselben Autoren berichten über das mögliche Überleben und das Wachstum dieser Keime im organisch reichen Sediment direkt unter den Käfigen. Solche Sedimente können während erhöhter Strömungsgeschwindigkeit resuspendiert und verlagert werden. Da dieses Bakterium eine große Gefahr für die Aquakultur darstellt, wird es seit 1985 sehr stark mit Antibiotika bekämpft. Das führte zu einer

generellen Zunahme der Resistenz -auch Multiresistenz- gegen alle zugelassenen Antibiotika (Inglis *et al.* 1994).

Kolonienform: Der Stamm entwickelte auf dem TSA-Medium schwarzbraune Kolonien, diese färbten das unmittelbar angrenzende Agar mit einem braunen Pigment. Der Durchmesser betrug 0,6 cm (Abb. 24).

Bemerkungen: *A. salmonicida* ist gärungsaktiv, stellt ein braunes, in Wasser unlösliches Pigment in TSA her. Diese Art wächst nicht über 37°C und wurde nur im Mai bei dieser Untersuchung isoliert.

Charakterisierung der Gattung *Vibrio*:

Die Gattung *Vibrio* besteht aus Gram-negativen Bakterien, die gebogene Stäbchen von 0,5-0,3 x 1,4-2,6 µm bilden. Sie bilden keine Sporen und sind durch eine oder mehrere polare Geißeln beweglich. Alle sind fakultativ anaerob und chemoorganotroph. Meistens zeichnen sie sich durch eine positive Oxidase-Reaktion aus. Die Mitglieder dieser Gattung sind sensitiv gegenüber dem Vibriostaticum-0/129. Weiterhin enthielten die Kulturen verschiedene Gruppen der Vibrionaceae, die nicht bis hin zur Gattung aufgeschlüsselt werden konnten. Bakterien, die Saccharose vergären, entwickelten gelbe Kolonien, nicht-Saccharose vergärende Gruppen entwickelten grüne Kolonien.

Vibrio alginolyticus

Wichtige Merkmale der Art für die Aquakultur: Es gibt Indizien, daß diese Art bakterielle Septikämien verursacht, und daher als pathogen bezeichnet werden kann. Eine experimentelle Infektion führte zu keinem Krankheitsbild; möglicherweise deshalb, weil sie sekundär pathogen wirken. Es ist bereits gelungen, Stämme dieser Art, die man vorher in *Anguilla anguilla* und *Sparus aurata* nachgewiesen hatte (Austin & Austin 1989, 1993), durch das TCBS-Medium zu isolieren. *Vibrio alginolyticus* wurde als bedeutender Vertreter der *Vibrio*-Gattung besonders an Küsten und in Ästuaren gefunden (Kaneko & Colwell 1974). Gilmour (1977) gelang es, diese Art in Fischtanks zu isolieren.

Kolonienform des Stammes 1: Der Stamm 1 entwickelte auf dem TCBS-Medium gelb-orange, flache Kolonien. Eine Kolonie hatte einen ca. 1,3 cm Durchmesser und war an den Rändern durch blumenkohlähnliche Abrundungen geprägt (Abb. 26). Dieser Stamm reagierte gegenüber Vibriostaticum sensitiv

Kolonienform des Stammes 2: Der Stamm 2 entwickelte auf dem TCBS-Medium gelbe, flache Kolonien mit unauffälligen, einfachen Rändern. Der Durchmesser der Kolonien betrug ca. 0,7 cm. Die Mitte war dunkler als der Rand und im Gegenlicht konnte man konzentrische Kreise erkennen (Abb. 26).

Kolonienform des Stammes 3: Der Stamm 3 entwickelte auf dem TSA-Medium hellbraune, flache Kolonien, mit einem dunkleren Zentrum und mit runden Rändern. Die Ränder nahmen nach 7 Tagen eine blumenkohlähnliche Form. Der Durchmesser der Kolonien betrug ca. 1 cm. Dieser Stamm vergäerte keine Saccharose (Abb. 26).

Vibrio parahaemolyticus

Wichtige Merkmale der Art für die Aquakultur: Dieser Stamm kommt in Ästuaren und Meeresgewässern vor und ist als humanpathogen eingestuft. In Japan verursacht er 50-70 % aller mit dem Verzehr von Meeresfrüchten verbundenen Fälle von Gastroenteritis. Die Art kann sehr abundant sein (ab 15°C). In den kälteren Monaten sinkt ihre Konzentration drastisch ab (Sakazaki & Balows 1981). Es gibt Indizien, die darauf hinweisen, daß *V. parahaemolyticus* in den Wintermonaten im Sediment von Ästuaren und küstennahen Gebieten überleben kann und daß eine enge Beziehung zwischen *V. parahaemolyticus* und Copepoden im Meereswasser besteht (Kaneko & Colwell 1973). Diese Art wurde bereits auf dem TCBS-Medium isoliert (Austin & Austin 1987).

Kolonienform des Stammes 1: Der Stamm 1 entwickelte auf dem TCBS-Medium hellgrüne, flache Kolonien, deren Mitte dunkler als der Rand war. Der Durchmesser der Kolonien betrug ca. 3 cm. Er vergärt keine Saccharose (Abb. 27).

Kolonienform des Stammes 2: Der Stamm 2 entwickelte auf dem TCBS-Medium blaugrüne, helle und flache Kolonien mit konzentrischen Kreisen. Der Durchmesser betrug 0,9 cm (Abb. 27).

Bemerkungen: Es handelt sich um fakultativ anaerobe Stäbchen, die durch ein polares Flagellum beweglich sind. Dieser Art bildet keine Sporen aus und ist sensitiv gegenüber Vibriostaticum-0/129.

Vibrio sp.

Wichtige Merkmale der Art für die Aquakultur: *V. alginolyticus*, *V. proteus*, *V. anguillarum* und *V. parahaemolyticus* wurden von Sakazaki & Balows (1981) häufig in küstennahen Gewässern isoliert. Sie sind abundant in bewegungsarmen Gewässern mit organisch reichen Sedimenten. Ihre Abundanz sinkt deutlich in Gebieten, in denen sauerstoffreiches Wasser und „rocky shores“ vorkommen. Sie sind sensitiv gegenüber Vibriostaticum- 0/129 (Inglis *et al.* 1994). Viele Arten dieser Gattung sind als human- und fischpathogen betrachtet.

Kolonienformen: Der Stamm entwickelte auf dem TSA-Medium kleine, runde und hellbraune Kolonien, mit einem Durchmesser von 0,5 cm. Dies waren die am häufigsten isolierten Kolonien (Abb. 21).

B. Familie: Enterobacteriaceae

Die Familie Enterobacteriaceae besteht aus Gram-negativen Bakterien, die Oxidase-negative, asporogene Stäbchen bilden. Sie können mobil (mittels peritricher Geißelung) oder unbeweglich sein und aerob oder anaerob wachsen, wobei Säure und Gas oft aus Zuckern produziert werden. Während der Untersuchung in der Wismarer Bucht wurden aus dieser Familie (Brenner 1981) die Gattungen *Enterobacter*, *Serratia* und *Proteus* isoliert.

Charakterisierung der Gattung *Enterobacter*:

Sie produzieren häufig ein gelbes Pigment. Folgende Tests sind negativ: H₂S-, Indolproduktion, Phenylalanin-Deaminase, Dulcitol, Erythritol. Sie sind beweglich, reduzieren Nitrat zu Nitrit. Glucose, Mannitol, Arabinose, Rhamnose, Xylose, Trehalose, Cellobiose, Maltose, Melibiose und ONPG werden vergoren.

***Enterobacter* sp.**

Kolonienform des Stammes 1: Die kleinen gelben Kolonien des Stammes 1 färbten das TCBS-Medium gelblich. Sie hatten sonnenähnliche Formen und einen Durchmesser von 0,2 bis 0,3 cm (Abb. 28).

Charakterisierung der Gattung *Serratia*:

Vertreter dieser Gattung sind dadurch charakterisiert, daß sie ein rotes Pigment ausbilden. Die häufigsten *Serratia* Arten, die in Binnengewässern isoliert wurden, sind die Arten: *S. marcescens* und *S. plymuthica*. Für die letztere Art ist Wasser der wichtigste Lebensraum (Grimont & Grimont 1981).

***Proteus* sp.**

Kolonienformen: Der Stamm entwickelte auf dem TSA-Medium hellbraune Kolonien. Sie hatten ein Aussehen von sich kreuzenden Strahlen.

Bemerkungen: Der Art konnte nicht skizziert und bis hin zum Artniveau bestimmt werden.

Tatumella ptyseos

Kolonienform des Stammes 1: Der Stamm 1 entwickelte auf dem TSA-Medium orangefarbene, flache Kolonien in unregelmäßigen Formen (Abb. 29).

Kolonienform des Stammes 2: Der Stamm 2 entwickelte auf dem TSA-Medium weisse, körnige, flache Kolonien, in deren Zentrum sich eine Erhöhung ausbildete (Abb. 29).

C. Familie: Moraxellaceae

Es handelt sich um eine Familie, die bis vor 1981 noch als eine Gattung der Familie Neisseriaceae definiert wurde. Von dieser Familie wurden Stämme der Gattung *Acinetobacter* (Bøvre & Hagien 1981) in der Wismarer Bucht isoliert. Die Gattung *Acinetobacter* reagiert im Oxidase-Test negativ, die Morphologie ist Stäbchenförmig.

Acinetobacter sp.

Wichtige Merkmale der Art für die Aquakultur: Bakterien dieser Gattung sind häufig in Binnen- und Meeresgewässern anzutreffen. Eine noch nicht identifizierte Art dieser Gattung gilt in norwegischen Brackgewässern als fischpathogen.

Kolonienform des Stammes 1: Dieser Stamm entwickelte auf dem TCBS-Medium kleine, gelbe, hohe Kolonien, deren Durchmesser 1,0 cm betrug (Abb. 30).

Kolonienform des Stammes 2: Der Stamm entwickelte auf dem TSA-Medium hellbraune Kolonien mit einem Durchmesser zwischen 0,5 cm und 2,0 cm. Die Ränder zeichneten sich durch eine Randform aus, welches sich kreuzenden Strahlen ähnelte. In der Mitte entwickelte sich eine angehobene, runde Zone (Abb. 30).

D. Familie: Pseudomonadaceae

Es handelt sich um Bakterien, die in großen Mengen an fast allen Orten auftreten. Sie bestehen aus polar begeißelten Stäbchen, die Oxidase-positiv und Gram-negativ sind. Ihre Energiequelle ist chemoorganotroph, der Stoffwechsel ist typisch aerob. Sie zeichnen sich durch fehlende Photosynthese und Gärung aus. Sie wirken sehr aktiv in der Mineralisation organischer Stoffe und sind daher in Kläranlagen nützlich.

Die Gattung *Pseudomonas*: Sie gehören der rRNA-Gruppe I, der größten innerhalb dieser Familie, an. Diese Art kann unter bestimmten Wachstumsbedingungen (z.B. eisenarme Nährboden) Pigmente produzieren, die in kurzwelligem Licht fluoreszieren (Palleroni 1981). Fünf Arten der Gattung sind als fischpathogene beschrieben worden. Unter ihnen befindet sich möglicherweise auch *P. fluorescens* (Austin & Austin 1993).

Pseudomonas fluorescens

Wichtige Merkmale der Art für die Aquakultur: *P. fluorescens* ist eine dominierende Komponente der Binnengewässer. Diese Art wurde mehrmals als digestives Bakterium und als sekundärer Erreger identifiziert. Sowohl Li & Flemming (1967), Li & Taxler (1971) als auch Sakai *et al.* (1989) beschrieben die Art als Krankheitserreger Regenbogenforellen. *P. fluorescens* ist mehrmals auf dem TSA-Medium isoliert worden.

Kolonienformen: Der Stamm entwickelte auf dem TSA-Medium flache Kolonien, deren Ränder weiß und abgerundet, und deren Mitten durchsichtig waren. Der Durchmesser der Kolonien betrug 3,0 bis 4,0 cm (Abb. 22).

Pseudomonas sp.

Kolonienformen: Der Stamm entwickelte auf dem TSA-Medium kleine, tief-gelbe, runde Kolonien mit einem Durchmesser von 0,3 cm (Abb. 25).

Charakterisierung der Gattung *Alcaligenes*: Gattung mit unklarer taxonomische Anordnung (Tilton 1981). Vertreter dieser Gattung konnten auf TSA-Medium angereichert werden. Die Gattung ist ubiquitär verbreitet. Es handelt sich um Gram-negative, coccale Formen. Vertreter dieser Gattung werden Boden und Abwasser gefunden. Sie gären nicht, sind Oxidase-positiv und benutzen Zitrat als einzige Kohlenstoffquelle. Die Gattung ist für Menschen pathogen.

Alcaligenes sp.

Kolonienformen: Der Stamm entwickelte auf dem TSA-Medium blassrosa, hohe und runde Kolonien, die in der Mitte farbiger als an den Rändern waren. Der Durchmesser der Kolonien betrug 0,6 cm.

Bemerkungen: Der Art konnte nicht skizziert werden.

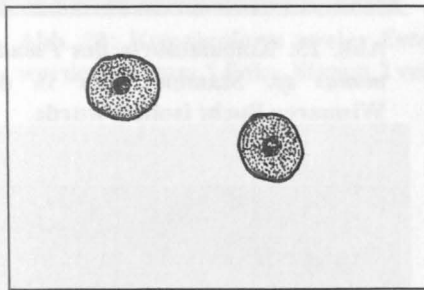


Abb. 21: Kolonienform des Stammes von *Vibrio* sp., die in der Wismarer Bucht isoliert wurde.

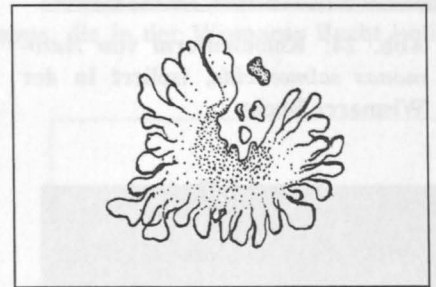


Abb. 22: Kolonienform des *Pseudomonas fluorescens* Stammes, der in der Wismarer Bucht isoliert wurde.

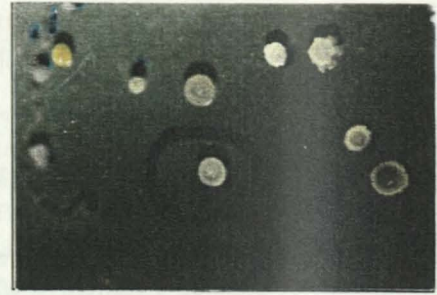
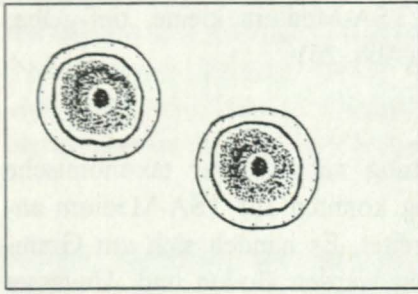


Abb. 23: Kolonienform der beiden Stämmen von *Aeromonas sobria*, die in der Wismarer Bucht isoliert wurde. Stamm 1 links, Stamm 2 rechts.

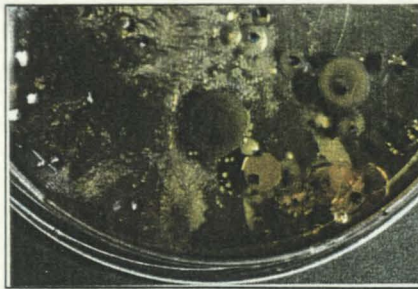


Abb. 24: Kolonienform von *Aeromonas salmonicida*, isoliert in der Wismarer Bucht.



Abb. 25: Kolonienform des *Pseudomonas* sp. Stammes, der in der Wismarer Bucht isoliert wurde.

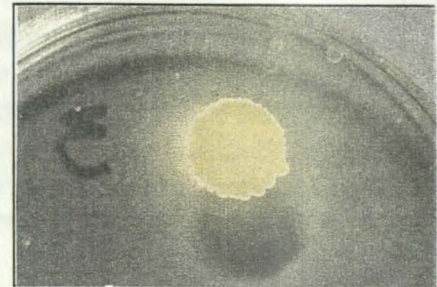
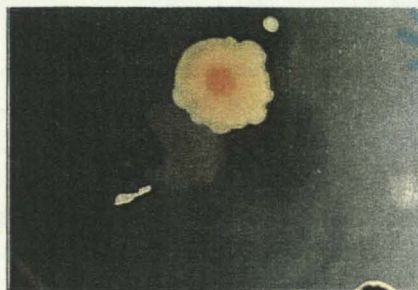


Abb. 26: Kolonienform der drei *Vibrio alginolyticus*-Stämme, die in der Wismarer Bucht isoliert wurden. Stamm 1 links oben, Stamm 2 rechts, Stamm 3 links unten.



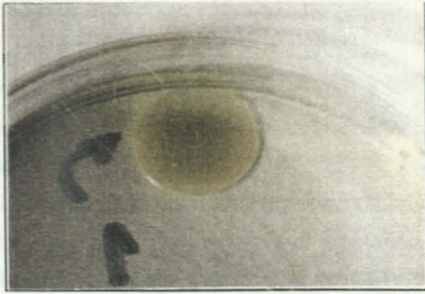


Abb. 27: Kolonienformen zweier *Vibrio parahaemolyticus*-Stämme, die in der Wismarer Bucht isoliert wurden. Stamm 1 links, Stamm 2 rechts.

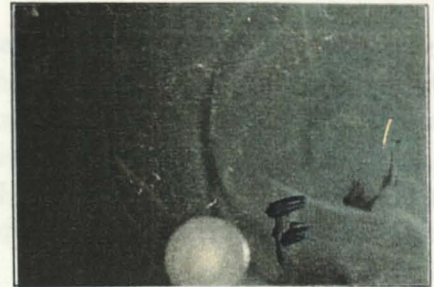
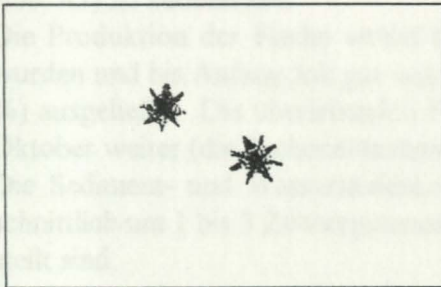


Abb. 28: Kolonienform zweier *Enterobacter sp.* Stämme, die in der Wismarer Bucht isoliert wurden. Stamm 1 links, Stamm 2 rechts.

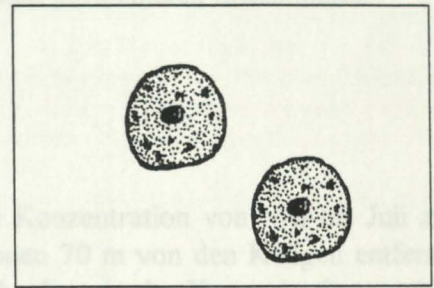


Abb. 29: Kolonienform zweier *Tatumella pyseos*-Stämme, die in der Wismarer Bucht isoliert wurden. Stamm 1 links, Stamm 2 rechts.

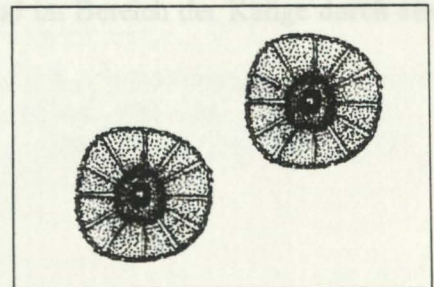
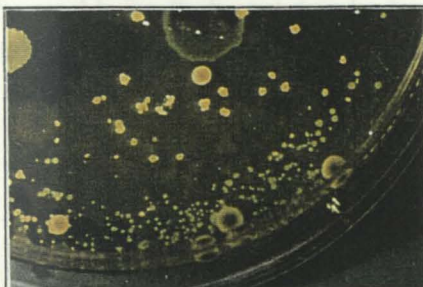


Abb. 30: Kolonienform zweier *Acinetobacter sp.* Stämme, die in der Wismarer Bucht isoliert wurde. Stamm 1 links, Stamm 2 rechts.

4.1.3.2 Zeitliche Veränderung und horizontale Verteilung

Im untersuchten Zeitraum wurden mit Hilfe der Medien ZoBell, TSA, ENDO-C und TCBS zeitliche und räumliche Veränderungen in der Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaft in Abhängigkeit von der Fischbiomasse und Temperaturänderungen untersucht. Da im Verlauf des Produktionszeitraums neben den Temperaturen auch signifikante Änderungen von Sauerstoff- und Nährstoffeinträgen in der Bucht beobachtet wurden (s. Abb. 2, 9 und 12), zeigten die Bakterienkonzentrationen und -verteilungen einen Verlauf, der möglicherweise von der Temperatur bestimmt wurde, d.h., die niedrigsten bakteriellen Konzentrationen waren im Mai, steigende Konzentrationen im Juni, maximale Werte im Juli und der Beginn einer Abnahme ihrer Konzentrationen im August/September (Abb. 31, Abb. 35, Abb. 39 und Abb. 43) zu beobachten.

Die Produktion der Fische verlief ähnlich; die Satzforellen (50 g), die im Mai ausgesetzt wurden und bis Anfang Juli gut wuchsen, waren Ende Juli einer signifikanten Mortalität (60 %) ausgeliefert. Die überlebenden Fische wuchsen bis zum Ende der Produktionssaison im Oktober weiter (die Probenentnahme im Juli fand vor Einsetzen der Mortalität statt).

Die Sediment- und Wassersäulenkonzentrationen der Bakterien unterschieden sich durchschnittlich um 1 bis 3 Zehnerpotenzen auf allen vier Medien, die im folgenden einzeln dargestellt sind.

Die Untersuchungsergebnisse sind in diesem Kapitel den Nährböden entsprechend getrennt dargestellt. Sie beinhalten eine Analyse des Sediments und der Wassersäule vom Mai bis Aug./Sept., die Ergebnisse einer detaillierten im Juli durchgeführten Untersuchung und am Ende eine Zusammenfassung der wichtigsten zeitlichen und horizontalen Erkenntnisse.

ZoBell

Sediment und Wassersäule

Im Sediment war eine signifikant steigende bakterielle Konzentration von Mai bis Juli zu beobachten (Abb. 31), wobei im Mai die Konzentrationen 70 m von den Käfigen entfernt höher als im Juni waren. Zudem wurde im Juni eine Abnahme in der Konzentration an der Referenzstation festgestellt.

Der Unterschied zwischen beiden Sedimentstationen war signifikant ($P < 0,05$). Die Konzentrationen waren im Mai höher an der Referenzstation und im Juni und Juli höher unter den Käfigen, d.h. im Sediment wurde der veränderte Zustand im Bereich der Käfige durch eine Zunahme von Saprophyten widerspiegelt.

Tab. 11: Mittelwerte und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Bakterienabundanzen in der Wassersäule (CFU/ml) und im Sediment (CFU/cm³), die im Frühjahr und Sommer 1995 auf dem ZoBell-Medium in der Umgebung der Fischkulturanlage der Wismarer Bucht bestimmt wurden.

Stationen	Mai	Vk	Juni	Vk	Juli	Vk	August / Sept.	Vk
Käfige	3083	88	9117	98	2942	129	19346	182
70 m davon entfernt	975	43	612	50	212	102	3791	82
1000 m davon entfernt	*	*	587	47	225	16	13975	71
Sediment unter den Käfigen (oberster Zentimeter)	30611	70	267000	136	1812326	83	*	*
Sediment 70 m davon entfernt (oberster Zentimeter)	115222	98	25733	115	305838	20	*	*

* Keine Probe gewonnen

In der Wassersäule wurden im Mai geringere Konzentrationen an Bakterien als im August/September ermittelt (Tab. 11), wobei die Konzentrationen von Juni bis Juli abnahmen. An den einzelnen Wassersäulestationen wurden signifikant unterschiedliche Verteilungen während des Untersuchungszeitraumes festgestellt (Abb. 31). Abb. 32 stellt die signifikanten Verteilungsunterschiede dar, die zwischen den Monaten im Käfigbereich bestehen. In der Wassersäule wurden ebenfalls signifikante Unterschiede hinsichtlich der horizontalen Verteilung der Saprophyten festgestellt, wobei für jeden Meßmonat eine höhere Konzentration im Bereich der Anlage als in einer Entfernung von 70 m und 1000 m ermittelt werden konnte.

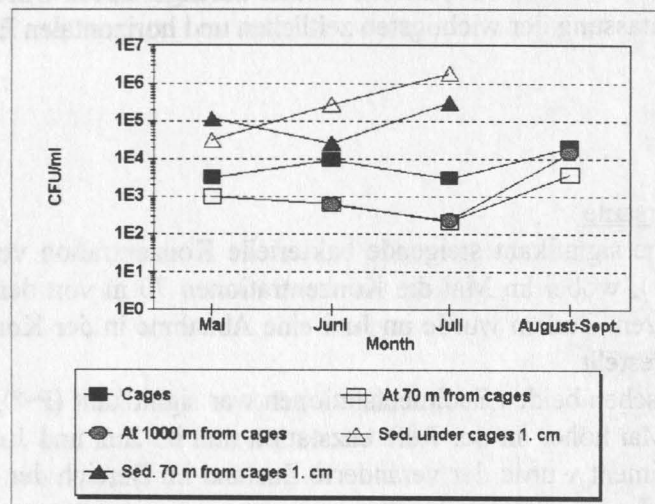


Abb. 31: Konzentration der Bakterien in der Wassersäule (CFU/ml) und im Sediment (CFU/cm³), die auf dem ZoBell-Medium in der Wismarer Bucht bestimmt wurden (semilogarithmische Darstellung).

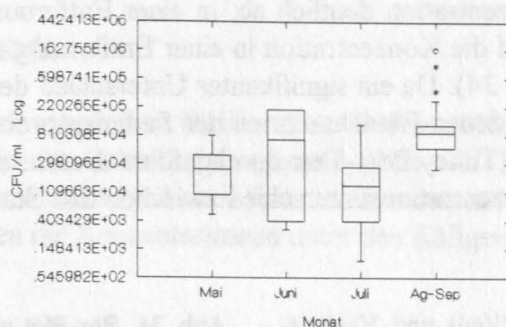


Abb. 32: Box-Plot mit der Bakterienverteilung in der Wassersäule, wie sie auf dem ZoBell-Medium an der Station „Käfige“ der Wismarer Bucht ermittelt wurde (Semilogarithmische Darstellung).

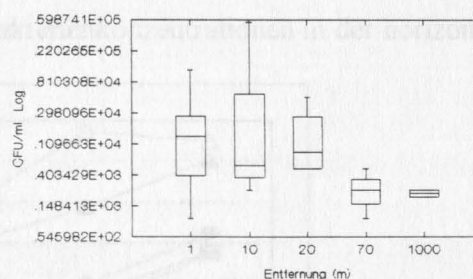
Detaillierte Untersuchungen der Wassersäule im Juli

Im Juli wurde ein höherer Konzentrationsmittelwert in einer Entfernung von 10 m als zwischen den Käfigen festgestellt. Die Konzentration sank mit zunehmender Distanz zu den Käfigen. Die Verteilung dieser Bakterienkonzentrationen zeigte aber keinen signifikanten Unterschied in der horizontalen Verteilung (Tab. 12) ($P=0,064$), obwohl in den Referenzstationen eine Abnahme der Konzentrationen zu beobachten war (Abb. 33).

Tab. 12: Konzentrationen (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Bakterien in der Wassersäule, die auf dem ZoBell-Medium in der Umgebung der Anlage im Juli 1994 wuchsen.

Stationen	Mittel.	Vk
Käfige	2942	129
10 m von den Käfigen entfernt	11975	183
20 m von den Käfigen entfernt	1850	116
70 m von den Käfigen entfernt	212	102
1000 m von den Käfigen entfernt	225	16

Abb. 33: Box-Plot mit der Bakterienverteilung in der Wassersäule, wie sie auf dem ZoBell-Medium in der direkten Umgebung der Anlage ermittelt wurde (Semilogarithmische Darstellung).



Es konnte gezeigt werden, daß die saprophytischen Bakterien in der Wassersäule nicht wesentlich von den freigesetzten Stoffen der Anlage gefördert wurden. Die eutrophen Bedingungen der Bucht sorgten für einen hohen „threshold value“, der sich nicht signifikant von der Konzentration im Bereich der Käfige unterschied.

Detaillierte Untersuchungen des Sediments im Juli

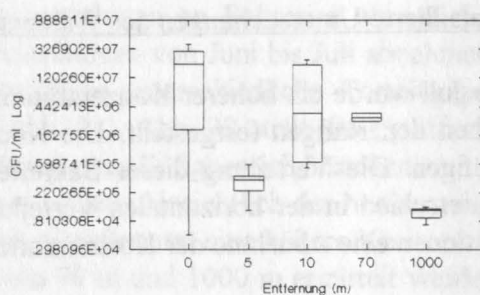
Die Auswertung der auf dem ZoBell-Medium gewachsenen Kolonien zeigte eine heterogene Verteilung der Bakterien unter den Käfigen. Dieses Ergebnis unterschied sich von dem an der Kontrollstation, an der deutlich geringere Schwankungen beobachtet wurden. Die höchste Bakterienkonzentration wurde unterhalb der Käfige gemessen. Schon in einer Entfer-

nung von 5 m sank die Konzentration deutlich ab, in einer Entfernung von 10 m stieg sie allerdings wieder an, während die Konzentration in einer Entfernung von 70 m und 1000 m weiter absank (Tab. 13, Abb. 34). Da ein signifikanter Unterschied der Bakterienkonzentrationen zwischen den verschiedenen Entnahmeorten der Sedimentproben festgestellt werden konnte ($P=0,031$), wurde ein Tukey Post-Test durchgeführt. Daraus resultierend ergab sich ein einziger signifikanter Konzentrationsunterschied zwischen den Stationen „Käfige“ und 5 m davon entfernt.

Tab. 13: Konzentrationen (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Sedimentbakterien, die auf dem ZoBell-Medium in der Umgebung der Anlage im Juli 1994 wuchsen.

Stationen	Juli	Vk
Unter den Käfigen	1812326	83
5 m von den Käfigen entfernt	33721	30
10 m von den Käfigen entfernt	991386	111
70 m von den Käfigen entfernt	305838	20
1000 m von den Käfigen entfernt	10665	30

Abb. 34: Box-Plot mit der Verteilung der Sedimentbakterien, wie sie auf dem ZoBell-Medium in der Umgebung der Anlage im Juli 1994 ermittelt wurden (semi-logarithmische Darstellung).



TSA

Sediment und Wassersäule

Im Vergleich Mai - Juni wurden im Sediment der Referenzstation keine signifikanten Konzentrationsunterschiede der Bakterien festgestellt (Abb. 35, Tab. 14). Unter den Käfigen wurde ein signifikanter Unterschied zwischen den Konzentrationen im Juni und Juli ermittelt. Im Sediment waren die Konzentrationen unter den Käfigen signifikant höher als in einer Entfernung von 70 m.

Tab. 14: Mittelwerte und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Bakterienabundanzen in der Wassersäule (CFU/ml) im Sediment (CFU/cm³), die im Frühjahr und Sommer 1995 auf dem TSA-Medium in der Umgebung der Fischkulturanlage der Wismarer Bucht bestimmt wurden.

Stationen	Mai	Vk	Juni	Vk	Juli	Vk	August /Sept.	Vk
Käfige	2250	87	262	63	449	72	6112	74
70 m davon entfernt	1875	212	1412	131	240	62	5324	76
1000 m davon entfernt	1875	212	200	35	934	61	17094	116
Sediment unter den Käfigen (oberster Zentimeter)	46733	57	66000	21	5496667	108	3090000	69
Sediment 70 m davon entfernt (oberster Zentimeter)	30267	47	8800	116	73700	85	1085714	127

In der Wassersäule zeigten die Konzentrationen der auf dem TSA-Medium gewachsenen Kolonien ein anderes saisonales Muster als die von den anderen Saprophyten (Tab. 14). Es war hier eine Abnahme von Mai bis Juli zu beobachten. Erst im August/September stieg die Konzentration an (Abb. 35). Es wurden signifikante Unterschiede in der Bakterienverteilung im Bereich der Käfiganlage festgestellt ($P < 0,001$) (Abb. 36). Die Unterschiede zwischen den Monaten Mai-Juni, Mai-Juli und Mai-Aug./Sept. wurden mittels Tukey Post-Test ($P=0,007$, $0,022$ und $0,032$) ermittelt.

Es wurden keine signifikanten Unterschiede der Bakterienkonzentrationen in der horizontalen Verteilung der Wassersäule ermittelt ($P > 0,05$).

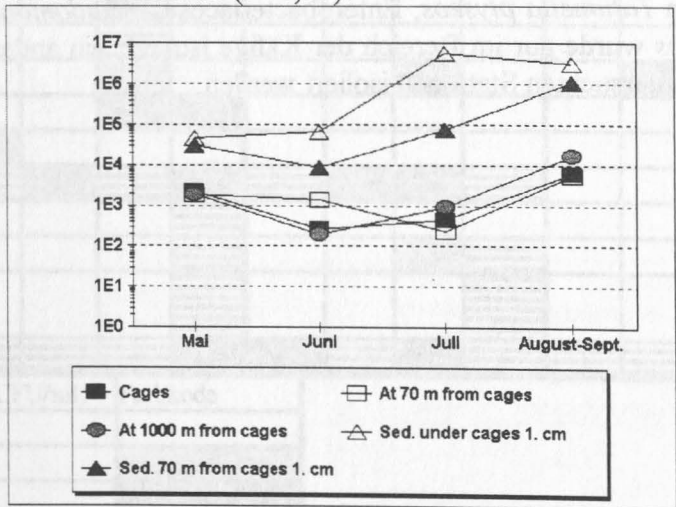


Abb. 35: Konzentration der Bakterien in der Wassersäule und in den Sedimenten, die auf dem TSA-Medium in der Wismarer Bucht im Untersuchungszeitraum wuchsen (semilogarithmische Darstellung).

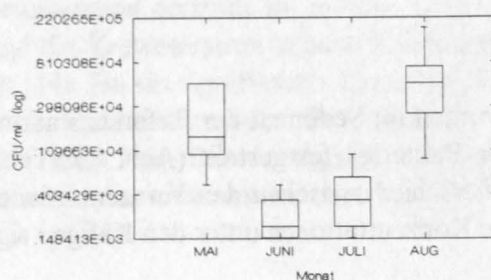


Abb. 36: Box-Plot mit der Bakterienverteilung in der Wassersäule, die auf dem TSA-Medium im Untersuchungszeitraum in der Wismarer Bucht an der Station „Käfige“ ermittelt wurden (semilogarithmische Darstellung).

Tab. 15 zeigt die auf dem TSA-Medium am häufigsten isolierten Bakterienarten des Sediments. Im Mai war ein Bakterienvorkommen zu erkennen, das im Juni wieder sank, um im Juli seine höchste Konzentration zu erreichen. Die wichtigsten Arten wurden als *Pseudomonas sp.*, *Vibrio sp.*, *Alcaligenes sp.* und *Acinetobacter sp.* identifiziert. Dabei war eine saisonale Schwankung erkennbar. Anfang Frühling konnten mehr Bakterien der Arten *Pseudomonas sp.*, *V. alginolyticus*, *A. sobria* und *Serratia sp.* beobachtet werden als im Sommer. Im Sommer wurden höhere Abundanzen der Arten *Vibrio sp.*, *Alcaligenes sp.*, *Acinetobacter sp.* und *Tatumella sp.* isoliert. Im Juli war *Vibrio sp.* abundanter unter den Käfigen als 70 m von den Käfigen entfernt. Im August/September hingegen war die Konzentration dieser Art unter den Käfigen niedriger als an der Referenzstation.

Tab. 16 zeigt die auf dem TSA-Medium am häufigsten isolierten Bakterienarten aus der Wassersäule. Im Mai war *Pseudomonas sp.* durch eine hohe Repräsentanz vertreten, wobei sich auch das Vorkommen an *V. alginolyticus* als abundant erwies. Im Juni wurden nur wenige Arten auf diesen Nährboden isoliert, *Pseudomonas sp.* dominierte auch in diesem Monat. Im Juli wurde ein Anstieg an isolierten Keimen beobachtet. Es handelte sich dabei hauptsächlich um *Tatumella pytyseos*, Enterobacteriaceae, *Pseudomonas sp.* und *Vibrio sp.* *Tatumella pytyseos* wurde nur im Bereich der Käfige isoliert, ein anderer Stamm dieser Art konnte an allen untersuchten Stationen isoliert werden.

Tab. 15: Übersicht über die Abundanz der auf dem TSA-Medium gewachsenen Kolonien an zwei Sedimentstationen von Mai bis September 1994 in der Wismarer Bucht.

Bakterienart	Käfige				70 m			
	Mai	Juni	Juli	Aug./Sep.	Mai	Juni	Juli	Aug./Sep.
<i>Vibrio sp.</i>								
<i>V. alginolyticus</i>								
<i>Aeromonas salmonicida</i>								
<i>A. sobria</i>								
Enterobacteriaceae								
<i>Enterobacter sp.</i>								
<i>Tatumella ptyseos</i>								
<i>Serratia sp.</i>								
<i>Pseudomonas sp.</i>								
<i>Alcaligenes sp.</i>								
<i>Acinetobacter sp.</i>								
andere								
Konzentrationsbereich (CFU/ml)	Farbkode							
nicht isoliert								
1-99								
1.000-49.999								
50.000-99.999								
100.000->								

Tab. 16: Übersicht über die Abundanz der auf dem TSA-Medium gewachsenen Kolonien an drei Stationen der Wassersäule von Mai bis September 1994 in der Wismarer Bucht.

Bakterienart	Käfige				70 m				100 m			
	Mai	Juni	Juli	Aug./Sep.	Mai	Juni	Juli	Aug./Sep.	Mai	Juni	Juli	Aug./Sep.
<i>Vibrio sp.</i>												
<i>V. alginolyticus</i>												
<i>A. sobria</i>												
Enterobacteriaceae												
<i>Enterobacter sp.</i>												
<i>Tatumella ptyseos</i>												
<i>Serratia sp.</i>												
<i>Pseudomonas sp.</i>												
<i>P. fluorescens</i>												
<i>Alcaligenes sp.</i>												
<i>Acinetobacter sp.</i>												
andere												
Konzentrationsbereich (CFU/ml)	Farbkode											
Nicht isoliert												
1-9												
10-99												
100-999												
1000->												

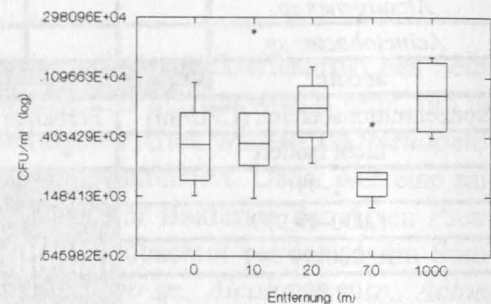
Detaillierte Untersuchungen der Wassersäule im Juli

Im Juli 1994 zeigten die Bakterienkonzentrationen der Wassersäule auf dem TSA-Medium keine signifikanten Unterschiede in ihrer horizontale Verteilung (Tab. 17). Die Konzentrationen unter den Käfigen und in einer Entfernung von 70 m waren vergleichbar niedrig, während in einer Entfernung von 20 m und 1000 m die höchsten Werte festgestellt wurden. Das deutet auf eine sehr heterogene Verteilung dieser bakteriellen Gruppe hin (Abb. 37).

Tab. 17: Konzentrationen (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Bakterien in der Wassersäule, die auf dem TSA-Medium im Juli 1994 in der Umgebung der Anlage wuchsen.

Stationen	Mittel.	Vk
Käfige	449	72
10 m von den Käfigen entfernt	685	122
20 m von den Käfigen entfernt	719	60
70 m von den Käfigen entfernt	240	62
1000 m von den Käfigen entfernt	934	61

Abb. 37: Box-Plot mit der Bakterienverteilung in der Wassersäule, die auf dem TSA-Medium in der direkten Umgebung zur Anlage im Juli 1994 ermittelt wurden (semilogarithmische Darstellung).



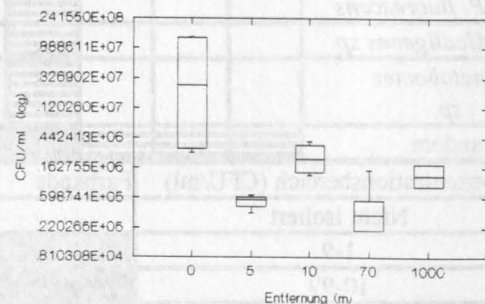
Detaillierte Untersuchungen des Sediments im Juli

Die Bakterienkonzentration des Sediments wies in der horizontalen Verteilung einen signifikanten Unterschied ($P=0,002$) auf, der durch einen Tukey Post-Test jedoch nicht bestätigt wurde. Es war dabei eine höhere Konzentration unter den Käfigen zu beobachten. Die Konzentrationen an den anderen Stationen waren vergleichbar niedrig und lagen deutlich unter dem Niveau unterhalb der Käfige (Tab. 18). Die Verteilung der Abundanzen sind in Abb. 38 dargestellt.

Tab. 18: Konzentrationen (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Sedimentbakterien, die auf dem TSA-Medium im Juli 1994 in der Umgebung der Anlage wuchsen.

Stationen	Juli	Vk
Unter den Käfigen	5496667	108
5 m von den Käfigen entfernt	48500	49
10 m von den Käfigen entfernt	247400	52
70 m von den Käfigen entfernt	73700	85
1000 m von den Käfigen entfernt	136000	50

Abb. 38: Box-Plot mit der Verteilung der Sedimentbakterien, die auf dem TSA-Medium in der Umgebung der Anlage im Juli 1994 ermittelt wurden (semilogarithmische Darstellung).



ENDO-C

Sediment und Wassersäule

Die Bakteriengruppe, die auf ENDO-C wuchs, zeigte nicht dieselbe deutliche Konzentrations-tendenz wie die auf den anderen Medien gewachsenen Vergleichsgruppen (Abb. 39, Tab. 19).

Die Sedimentkonzentrationen unter den Käfigen nahmen von Mai bis Juli zu. An der Referenzstation wurde im Juni zuerst ein Rückgang, im Juli jedoch wieder eine Zunahme beobachtet. Die Konzentration in der Referenzstation war im Mai höher als im Juni (wie auch bei den anderen Nährböden TCBS, ZoBell und TSA).

Die Konzentrationen der auf ENDO-C-Medium gewachsenen Bakterien beider Sedimentstationen waren signifikant unterschiedlich.

Tab. 19: Mittelwerte und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Bakterienabundanzen in der Wassersäule (CFU/ml) und im Sediment (CFU/cm³), die im Frühjahr und Sommer 1995 auf dem ENDO-C-Medium in der Umgebung der Fischkulturanlage der Wismarer Bucht bestimmt wurden.

Stationen	Mai	Vk	Juni	Vk	Juli	Vk	August / Sept.	Vk
Käfige	1641	146	154750	32	39037	123	2422	80
70 m davon entfernt	165	113	150	0	2662	107	2280	88
1000 m davon entfernt	*	*	150	0	700	172	7275	103
Sediment unter den Käfigen (oberster Zentimeter)	1072	37	361150	145	3275807	72	*	*
Sediment 70 m davon entfernt (oberster Zentimeter)	32400	59	2850	123	641418	144	*	*

Keine Probe gewonnen

Abb. 40 zeigt die Bakterienverteilung an der Station „Käfige“ in der Wassersäule. Die Konzentrationsunterschiede zwischen den verschiedenen Monaten im Käfigbereich signifikant ($P=0,001$).

In der Wassersäule ergaben sich für die Stationen in 70 m und in einer Entfernung von 1000 m von der Käfiganlage keine signifikanten Konzentrationsunterschiede während des Untersuchungszeitraumes. Besonders im Juni wurde im Käfigbereich eine deutlich höhere Konzentration als an beiden Referenzstationen der Wassersäule festgestellt (Abb. 39).

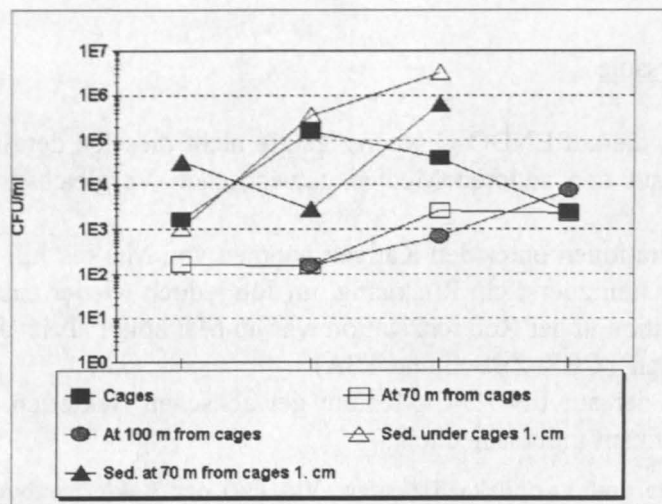


Abb. 39: Konzentration (CFU/ml) der Bakterien in der Wassersäule und in Sedimenten, die auf dem ENDO-C in der Wismarer Bucht im Untersuchungszeitraum wuchsen (semilogarithmische Darstellung).

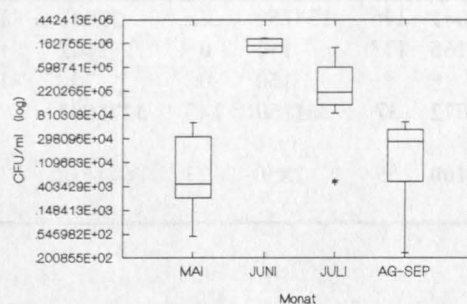


Abb. 40: Box-Plot mit der Bakterienverteilung in der Wassersäule, die auf dem ENDO-C-Medium in der Wismarer Bucht im Untersuchungszeitraum an der Station „Käfige“ ermittelt wurden (semilogarithmische Darstellung).

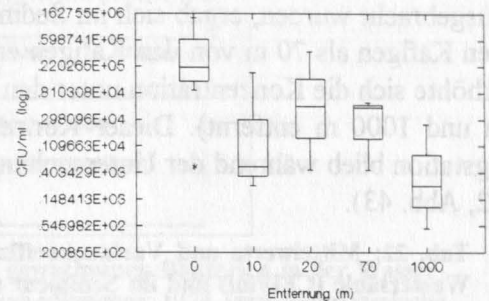
Detaillierte Untersuchungen in der Wassersäule im Juli

Auf dem ENDO-C-Medium zeigte sich im Bereich der Käfige eine höhere Konzentration an Bakterien als an den anderen Stationen (Tab. 20). In der Entfernung von 10 m bis 70 m blieb die etwas verringerte Konzentration relativ konstant und sank erst nach 70 m. Diese Unterschiede sind aber dennoch nicht signifikant. Die Verteilungen der Konzentrationen sind in Abb. 41 dargestellt.

Tab. 20: Konzentrationen (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Bakterien in der Wassersäule, die auf dem ENDO-C-Medium im Juli 1994 in der Umgebung der Anlage wuchsen.

Stationen	Mittel.	Vk
Käfige	39037	123
10 m von den Käfigen entfernt	5950	162
20 m von den Käfigen entfernt	10712	169
70 m von den Käfigen entfernt	2662	107
1000 m von den Käfigen entfernt	700	172

Abb. 41: Box-Plot mit der Bakterienverteilung in der Wassersäule, die auf dem ENDO-C-Medium im Juli 1994 in der direkten Umgebung zur Anlage wuchsen (semilogarithmische Darstellung).



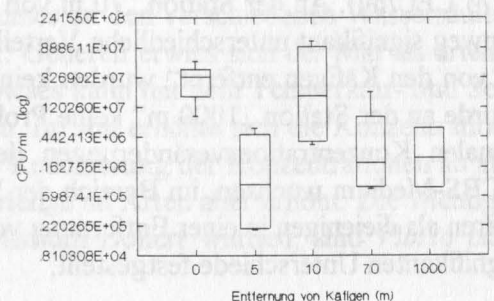
Detaillierte Untersuchungen des Sediments im Juli

Trotz vorhandener Schwankungen (Tab. 21) wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den bakteriellen Konzentrationen an den verschiedenen Stationen festgestellt ($P=0,137$). Unter den Käfigen wurde eine relativ hohe Konzentration beobachtet. In einer Entfernung von 5 m sank die Konzentration deutlich ab, in einer Entfernung von 10 m stieg sie wieder bis zu einem maximalen Wert an. Nach einer Entfernung von 70 m und 1000 m sank die Konzentration wiederum ab. Die Verteilung der Sedimentbakterien ist in Abb. 42 dargestellt.

Tab. 21: Konzentrationen (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Sedimentbakterien, die auf dem ENDO-C-Medium im Juli 1994 in der Umgebung der Anlage wuchsen.

Stationen	Juli	Vk
Unter den Käfigen	3275807	72
5 m von den Käfigen entfernt	256206	111
10 m von den Käfigen entfernt	4856327	111
70 m von den Käfigen entfernt	641418	144
1000 m von den Käfigen entfernt	342599	108

Abb. 42: Box-Plot mit der Verteilung der Sedimentbakterien, die auf dem ENDO-C-Medium im Juli 1994 in der direkten Umgebung der Anlage ermittelt wurden (semilogarithmische Darstellung).



Die Ergebnisse in der Wassersäule deuten auf einen möglichen Zusammenhang zwischen der Bakterienverteilung und den freigesetzten Stoffen der Anlage hin. Der Zusammenhang ließ sich aufgrund der durchgeführten statistischen Korrelationsanalysen nicht bestätigen.

TCBS**Sediment und Wassersäule**

Tab. 22 zeigt die Konzentration der Bakterien, die auf TCBS-Medium wuchsen, für die verschiedenen Stationen in dem o.g. Untersuchungszeitraum.

Die zeitliche und horizontale Analyse ergab signifikante Unterschiede zwischen den Konzentrationen der verschiedenen Stationen im Sediment. Kurz nachdem die Fische im Mai ausgebracht wurden, ergab sich im Sediment eine signifikant geringere Konzentration unter den Käfigen als 70 m von den Käfigen entfernt (erste Referenzstation). Einen Monat später erhöhte sich die Konzentration unter den Käfigen und sank an beiden Referenzstationen (70 m und 1000 m entfernt). Dieser Konzentrationsunterschied zwischen Referenz- und Käfigstation blieb während der Untersuchungen von Juli und August/September erhalten (Tab. 22, Abb. 43).

Tab. 22: Mittelwerte und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Bakterienabundanzen in der Wassersäule (CFU/ml) und im Sediment (CFU/cm³), die im Frühjahr und Sommer 1995 auf dem TCBS-Medium in der Umgebung der Fischkulturanlage der Wismarer Bucht bestimmt wurden.

Stationen	Mai	Vk	Juni	Vk	Juli	Vk	August / Sept.	Vk
Käfige	4	35	17	20	1527	110	473	217
70 m davon entfernt	8	173	27	38	925	140	101	130
1000 m davon entfernt	*	*	57	43	1727	169	150	184
Sediment unter den Käfigen (oberste Zentimeter)	133	173	29867	10	6395167	70	568750	104
Sediment 70 m davon entfernt (oberste Zentimeter)	4400	200	250	0	570187	81	42500	93

Keine Probe gewonnen

Es wurden signifikante Unterschiede der Wassersäulenkonzentrationen im Käfigbereich über den Zeitraum hinweg ermittelt ($P=0,018$), diese sind in Form eines Box-Plots dargestellt (Abb. 44). Im Mai wurde die geringste Bakterienkonzentration festgestellt (4 CFU/ml), im Juni eine etwas höhere (17 CFU/ml), im Juli die Maximalkonzentration (1527 CFU/ml). Im August/September konnte ein Konzentrationsrückgang beobachtet werden (473 CFU/ml). An der Station „70 m von den Käfigen entfernt“ wurden über den Zeitraum hinweg signifikant unterschiedliche Verteilungen ermittelt ($P=0,026$). An der Station „1000 m von den Käfigen entfernt“ wurden keine Unterschiede nachgewiesen ($P=0,270$). Im Mai wurde an der Station „1000 m“ keine Probe gewonnen. Dies deutet darauf hin, daß die saisonalen Konzentrationsveränderungen der Bakterien in der Wassersäule, die auf dem TCBS-Medium wuchsen, im Bereich der Käfige sowie 70 m von ihnen entfernt, deutlicher waren als diejenigen in einer Entfernung von 1000 m. Zwischen den Stationen wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt.

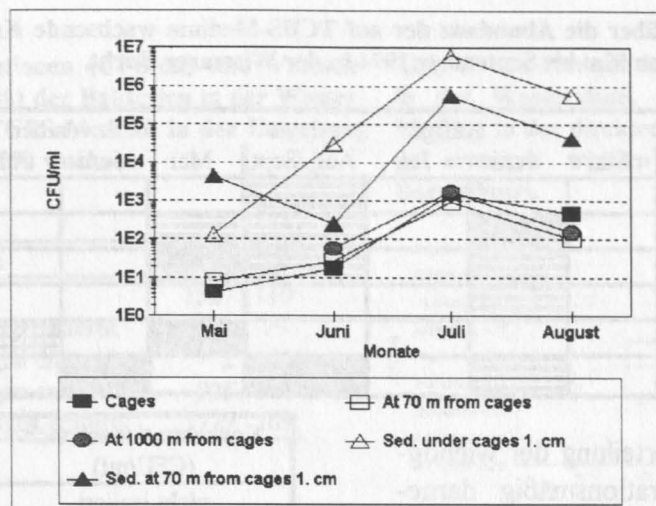


Abb. 43: Konzentration (CFU/ml) der auf dem TCBS gewachsenen Bakterien in der Wassersäule und Sedimente der Wismarer Bucht im Frühjahr-Sommer 1994 (semilogarithmische Darstellung).

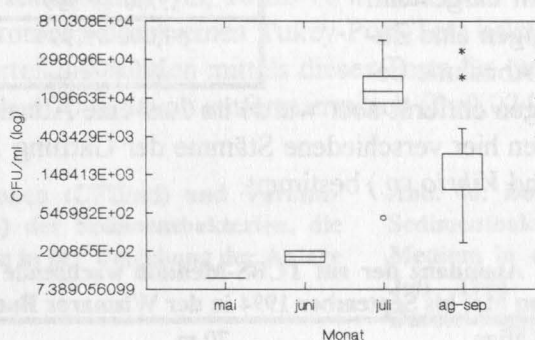


Abb. 44: Box-Plot mit der Bakterienverteilung in der Wassersäule, die auf dem TCBS-Medium an der Station „Käfige“ der Wismarer Bucht ermittelt wurde (semilogarithmische Darstellung).

In Tab. 23 wird die Verteilung der wichtigsten Arten der auf dem TCBS-Medium gewachsenen Kolonien innerhalb des Untersuchungszeitraumes an den verschiedenen Wassersäule-Stationen hinsichtlich der Konzentration betrachtet. Generell erwies sich der Mai als artenärmer und konzentrationsschwächer als der Juni. Dieses kann mit dem Temperatur- und Sedimentationsanstieg in Verbindung gebracht werden. Im Juli erhöhte sich die Konzentration an Bakterien deutlich. Im August vollzog sich eine Reduzierung der Konzentrationen an allen Stationen. An der Referenzstation hat sich die Menge an Arten aber erhöht. Die wichtigsten Arten in der Wassersäule, die mit diesem Medium isoliert wurden, sind *Vibrio parahaemolyticus* und *V. alginolyticus*.

Tab. 23: Übersicht über die Abundanz der auf TCBS-Medium wachsende Kolonien an zwei Sedimentstationen von Mai bis September 1994 in der Wismarer Bucht.

Bakterienart	Käfige				70 m von den Käfigen			
	Mai	Juni	Juli	Aug./Sept.	Mai	Juni	Juli	Aug./Sept.
<i>Vibrio sp.</i>								
<i>V. alginolyticus</i>								
<i>V. parahaemolyticus</i>								
<i>Aeromonas sobria</i>								
<i>Acinetobacter sp.</i>								
andere								

In Tab. 24 ist die Verteilung der wichtigsten Arten konzentrationsmäßig dargestellt. Es werden die auf dem TCBS-Medium entwickelten Kolonien an den Sedimentstationen unter den Käfigen und in einer Entfernung von 70 m dargestellt. Bis Juli wurde unter den Käfigen eine Zunahme und im August eine Abnahme beobachtet. 70 m von den Käfigen entfernt aber wurde im Juni eine Abnahme beobachtet. Als wichtigste Organismen wurden hier verschiedene Stämme der Gattung *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* und *Vibrio sp.*) bestimmt.

Konzentrationsbereich (CFU/ml)	Farbcode
nicht isoliert	
unbekannte Menge	
1-99	
100-999	
1.000-49.999	
50.000-99.999	
100.000->	

Tab. 24: Übersicht über die Abundanz der auf TCBS-Medium wachsende Kolonien an drei Stationen der Wassersäule von Mai bis September 1994 in der Wismarer Bucht.

Wassersäule Bakterienart	Käfige				70 m				Referenz			
	Mai	Juni	Juli	Aug./Sept.	Mai	Juni	Juli	Aug./Sept.	Mai	Juni	Juli	Aug./Sept.
<i>Vibrio sp.</i>												
<i>V. alginolyticus</i>												
<i>V. parahaemolyticus</i>												
<i>Aeromonas sobria</i>												
<i>Enterobacter sp.</i>												
<i>Acinetobacter sp.</i>												
andere												

Konzentrationsbereich (CFU/ml)	Farbcode
nicht isoliert	
unbekannte Menge	
1-9	
10->	

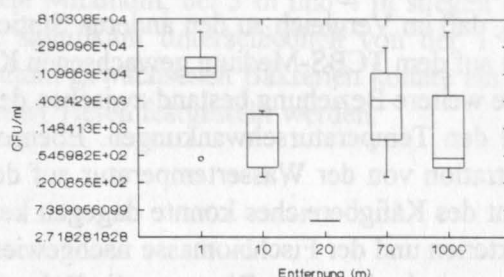
Detaillierte Untersuchung der Wassersäule im Juli

Im Juli wurde eine Untersuchung in der Wassersäulenkonzentration durchgeführt, um die horizontale Verteilung der Konzentration der auf TCBS gewachsenen Bakterien in der direkten Umgebung der Anlage zu bestimmen (Tab. 25, Abb. 45). Es wurden allerdings keine signifikanten Unterschiede mit zunehmender Entfernung von der Anlage gefunden ($P=0,226$).

Tab. 25: Konzentrationen (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Bakterien in der Wassersäule, die auf dem TCBS-Medium in der Umgebung der Anlage im Juli 1994 wuchsen.

Stationen	Mittel.	Vk
Käfige	1527	110
10 m von den Käfigen entfernt	150	79
20 m von den Käfigen entfernt	2	141
70 m von den Käfigen entfernt	925	140
1000 m von den Käfigen entfernt	1727	169

Abb. 45 Box-Plot mit der Bakterienverteilung in der Wassersäule, die auf dem TCBS-Medium in der direkten Umgebung zur Anlage ermittelt wurden (semiloga-rithmische Darstellung).



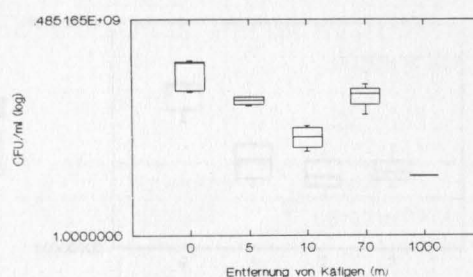
Detaillierte Untersuchung des Sediments im Juli

Die Sedimentstationen (Tab. 26, Abb. 46) zeigten im Juli 1994 eine signifikant höhere Konzentration unter den Käfigen als 5 m, 10 m, 70 m und 1000 m davon entfernt. Die Unterschiede ($P=0,004$) konnten durch einen Tukey-Post-Test belegt werden. Die signifikanten Unterschiede der Verteilung wurden mittels dieses Tests für die Stationen „unter den Käfigen“ und 5 m, 10 m und 70 m davon entfernt ermittelt ($P=0,024$, $0,018$ und $0,033$).

Tab. 26: Konzentrationen (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Sedimentbakterien, die auf dem TCBS-Medium in der Umgebung der Anlage im Juli 1994 wuchsen.

Stationen	Juli	Vk
Unter den Käfigen	6395167	70
5 m von den Käfigen entfernt	276875	37
10 m von den Käfigen entfernt	8283	112
70 m von den Käfigen entfernt	570187	81
1000 m von den Käfigen entfernt	250	0

Abb. 46: Box-Plot mit der Verteilung der Sedimentbakterien, die auf dem TCBS-Medium in der Umgebung der Anlage im Juli 1994 wuchsen. (semilogarithmische Darstellung).



Vergleich der Bakterienkonzentrationen mit Produktionsdaten und physikochemischen Variablen

Im Sediment unter den Käfigen wurden Beziehungen der Konzentrationen der auf den Medien ZoBell, ENDO-C und TCBS gewachsenen Bakterien zur Fischbiomasse und zum Glühverlust festgestellt. Durch die kleinräumige Untersuchung im Juli konnte ermittelt werden, daß im Vergleich zu den anderen Stationen unter den Käfigen höhere Konzentrationen von auf dem TCBS-Medium gewachsenen Kolonien auftraten.

Eine weitere Beziehung bestand zwischen den Konzentrationen auf den drei o.g. Nährböden und den Temperaturschwankungen. Ebenso konnte eine Abhängigkeit der Bakterienkonzentration von der Wassertemperatur auf dem TSA-Medium festgestellt werden. Im Sediment des Käfigbereiches konnte dagegen keine Beziehung zwischen auf TSA gewachsenen Bakterien und der Fischbiomasse nachgewiesen werden. Im Käfigbereich waren in den Monaten mit der höchsten Biomasse die Bakterien *Vibrio sp.* als die am häufigsten auftretende Gattung vertreten.

In der Wassersäule wurde eine nicht relevante, aber dennoch existierende Beziehung zwischen den Bakterienkonzentrationen, die auf den Medien ZoBell, TSA, ENDO-C wuchsen, und der Temperatur beobachtet. Zur Fischbiomasse oder zu anderen Parametern konnte keine weitere Beziehung aufgezeigt werden. Bei TSA wurde aber während der Monate mit der höchsten Biomasse die Arten *A. sobria*, *T. pyseos* und die Familie Enterobacteriaceae als die häufigsten isolierten Gruppen im Bereich der Käfige ermittelt. In der Wassersäule wurden ähnlich hohe Konzentrationen von Vertretern der *Vibrio*-Gruppe an allen Stationen nachgewiesen. Eine deutliche Beziehung konnte zwischen Temperaturanstieg und Zunahme der Bakterienkonzentrationen während des Untersuchungszeitraums festgestellt werden.

4.1.3.3 Untersuchungen im Vertikalprofil

Im Juli wurde die vertikale Verteilung der auf den verschiedenen Medien gewachsenen Bakterien in der Wassersäule innerhalb der Käfige untersucht.

Alle Konzentrationen auf den Nährböden zeigten ein ähnliches Verhalten. Eine starke Akkumulation der Bakterien wurde in der Grenzschicht Wasser/Luft beobachtet. In einer Tiefe von 1 m reduzierte sich die Konzentration auf ein Minimum, bei 3 m und 4 m stiegen die Konzentrationen wieder an, wobei diese nicht signifikant unterschiedlich von der 1 m-Konzentration war. Für die auf dem ZoBell-Medium gewachsenen Bakterien konnte ein signifikanter Unterschied bezüglich der verschiedenen Tiefen festgestellt werden.

ZoBell

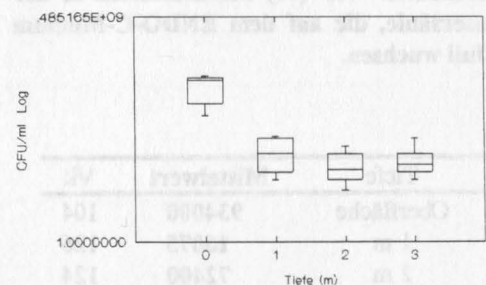
Wassersäule

Tab. 27 und Abb. 47 stellen die vertikale Verteilung der Saprophyten in der Wassersäule dar. Saprophytische Bakterien wurden in allen Tiefen ermittelt. Innerhalb der Anlage wurde in der Oberflächenschicht eine Konzentration ermittelt, die durchschnittlich $1,3 \times 10^6$ CFU/ml erreichte. In den tieferen Schichten wurden zwischen $1,5 \times 10^3$ bis $4,6 \times 10^3$ CFU/ml festgestellt, so daß der Unterschied 3 Zehnerpotenzen betrug. Diese vertikalen Konzentrationen waren signifikant unterschiedlich ($P=0,006$).

Tab. 27: Vertikale Konzentrationen (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Bakterien in der Wassersäule, die auf dem ZoBell-Medium im Juli wuchsen.

Tiefe	Mittelwert	Vk
Oberfläche	1344800	84
1 m	4658	108
2 m	1542	124
3 m	2625	142

Abb. 47: Box-Plot mit der Bakterienverteilung in der Wassersäule, die auf dem ZoBell-Medium im Juli ermittelt wurde (semilogarithmische Darstellung).



Durch ein Post-Test (Tukey) wurden Unterschiede in den Bakterienkonzentrationen zwischen der Oberfläche und jeweils der Wassertiefe von 1 m, 2 m und 3 m festgestellt (für alle Unterschiede ist $P<0,005$).

TSAWassersäule

Die Kolonien, die auf dem TSA-Medium wuchsen, zeigten eine deutlich unterschiedliche Verteilung. In der Oberflächenschicht wurden durchschnittlich $5,3 \times 10^5$ CFU/ml ermittelt, wobei in den tieferen Schichten 1×10^2 bis 5×10^2 CFU/ml gemessen wurden (Tab. 28). Diesen Werte zeigten im Vergleich zu den Daten für Heterotrophen, die auf dem ZoBell-Medium wuchsen, einen Unterschied um 3 Zehnerpotenzen.

Tab. 28: Vertikale Verteilung (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Wassersäulenbakterien, die auf dem ZoBell-Medium im Juli wuchsen.

Tiefe	Mittelwert	Vk
Oberfläche	537500	19
1 m	150	0
2 m	195	0
3 m	562	62

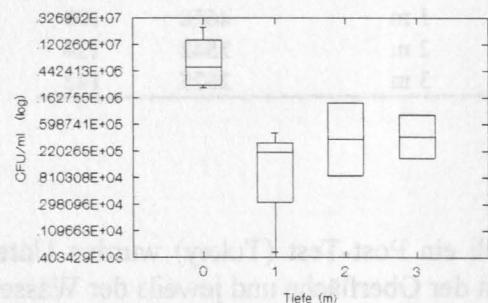
ENDO-CWassersäule

Die auf ENDO-C gewachsenen Kolonien akkumulierten ähnlich wie bei den Saprophyten (Tab. 29). An der Oberfläche wurden durchschnittliche Konzentrationen von $9,3 \times 10^5$ CFU/ml und in den tieferen Schichten Konzentrationen zwischen $1,6 \cdot 10^4$ und $7,2 \times 10^4$ CFU/ml festgestellt. Die Konzentrationsunterschied betrug eine Zehnerpotenz, so daß dieses Medium eine nicht so ausgeprägte Differenz wie bei den Medien ZoBell und TSA aufzeigte (Abb. 48).

Tab. 29: Vertikale Verteilungskonzentrationen (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Bakterien in der Wassersäule, die auf dem ENDO-C-Medium im Juli wuchsen.

Tiefe	Mittelwert	Vk
Oberfläche	934000	104
1 m	16075	126
2 m	72400	124
3 m	51600	94

Abb. 48: Box-Plot mit der Bakterienverteilung in der Wassersäule, die auf dem ENDO-C-Medium im Juli ermittelt wurden (semilogarithmische Darstellung).



Obwohl ein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Tiefen festzustellen war ($P = 0,046$), wurde dieser bei einem Post-Test nicht bestätigt. Diese Anomalie entsteht aufgrund der schwächeren Aussagekraft eines nicht parametrischen Tests gegenüber einem parametrischen Test. Dementsprechend ist statistisch nicht belegbar, daß Bakterien, die auf dem ENDO-C-Medium wuchsen, in der Grenzschicht Wasser/Luft in der Wismarer Bucht-Anlage höher konzentriert auftraten.

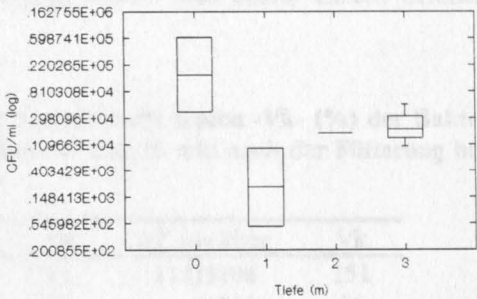
TCBS
Wassersäule

Die auf dem TCBS-Medium gewachsenen Bakterien zeigten im Juli 1994 eine durchschnittliche Konzentration von $3,2 \times 10^4$ CFU/ml an der Oberfläche und Konzentrationen zwischen $0,3 \times 10^3$ und $2,6 \times 10^3$ CFU/ml in den tieferen Schichten (Tab. 30, Abb. 49). Der Unterschied zwischen Oberfläche und tieferen Schichten betrug eine Zehnerpotenz. Dieser Unterschied konnte durch eine statistische Analyse nicht bestätigt werden ($P=0,094$). Bemerkenswert ist die deutlich höhere Bakterienkonzentration dieser Gruppe in der Wassertiefe von 3 m, dieses Ergebnis wurde schon bei der Auswertung des TSA-Mediums beobachtet.

Tab. 30: Vertikale Konzentrationen (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Bakterien in der Wassersäule, die auf dem TCBS-Medium im Juli wuchsen.

Tiefe	Mittelwert	Vk
Oberfläche	32875	125
1 m	336	161
2 m	1700	0
3 m	2660	78

Abb. 49: Box-Plot mit der Bakterienverteilung in der Wassersäule, die auf dem TCBS-Medium im Juli ermittelt wurden (semilogarithmische Darstellung).



4.1.3.4 Bakteriologische Untersuchungen vor und nach der Fütterung

Im August 1994 wurden mit Hilfe bakteriologischer Parameter (CFU auf den Medien ENDO-C, TSA, TCBS und ZoBell) Fütterungseffekte in der Wassersäule untersucht.

Die hier dargestellten Ergebnisse geben wichtige Informationen über die Konzentrationssteigerung einiger Gruppen der Mikroflora (besonders die auf ENDO-C wuchsen) während und kurz nach der Fütterung im Bereich der Käfige. Ergänzend wurden im Sommer 1996 Untersuchungen in der Kieler Förde durchgeführt, die das Ziel hatten, mögliche „Bakterienquellen“ für die beobachteten Konzentrationssteigerungen nach der Fütterung zu identifizieren und zu quantifizieren. Dabei wurde besonders die Bakterienfreisetzung von Netzen untersucht (Brown *et al.* in press).

ZoBell

In Tab. 31 sowie Abb. 50 sind Konzentrationsunterschiede der auf dem ZoBell-Medium gewachsenen Bakterien zu erkennen. Es bestanden signifikante Konzentrationsunterschiede an den Stationen C-Oberfläche und C vor und 10 min nach der Fütterung. An den anderen Stationen konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($P=0,428$). Da die Strömungsgeschwindigkeit weniger als 1 cm/s betrug, wirkte sich dieser Effekt offensichtlich aber nicht auf die Randstationen aus.

Tab. 31: Konzentrationsmittelwerte (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Bakterien in der Wassersäule, die auf dem ZoBell-Medium vor und 10 min nach der Fütterung bestimmt wurden. Angabe zu den Stationen in Abb. 6.

Stationen	vorher	Vk	10' nachher	Vk
C-Oberfläche	1922500	14	11515000	151
C	6119	36	11356	36
R - 0	11280	117	39750	12
C - 0	14088	114	6222	56
C - 10	12400	76	7320	56

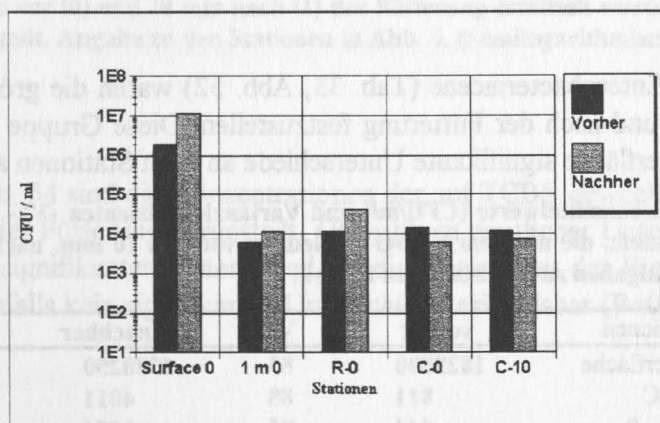


Abb. 50: Konzentrationsunterschiede der Bakterien in der Wassersäule, die auf ZoBell vor und 10 min nach der Fütterung ermittelt wurden. Angabe zu den Stationen in Abb. 6.

TSA

Die auf dem TSA-Medium gewachsenen Bakterien (Tab. 32, Abb. 51) zeigten nur einen signifikanten Konzentrationsunterschied im Bereich der Käfige, d.h. an den Stationen C-Oberfläche und C. Obwohl ein Konzentrationsunterschied in der Abb. 51 zu erkennen ist, war dieser nicht signifikant ($P < 0,05$).

Tab. 32: Konzentrationsmittelwerte (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Bakterien in der Wassersäule, die auf dem TSA-Medium vor und 10 min nach der Fütterung ermittelt wurden. Angaben zu den Stationen in Abb. 6.

Stationen	vor	Vk	10' nach	Vk
C-Oberfläche	2437500	41	3947500	37
C	4156	104	8185	63
R - 0	2587	42	13612	135
C - 0	8500	89	10885	100
C - 10	5200	100	42167	69

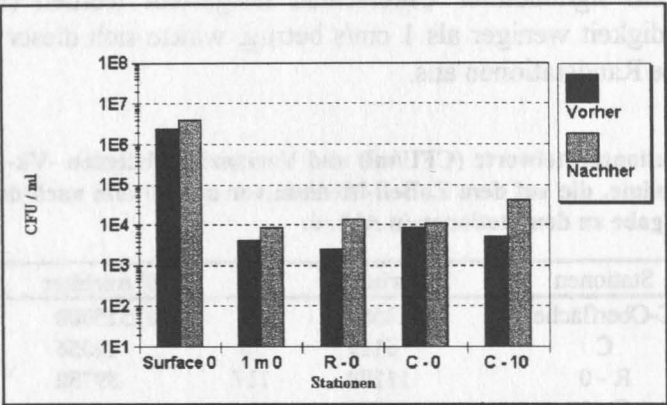


Abb. 51: Konzentrationsunterschiede (CFU/ml) der Bakterien in der Wassersäule, die auf dem TSA-Medium vor und 10 min nach der Fütterung ermittelt wurden. Angaben zu den Stationen in Abb. 6.

ENDO-C

Bei der Gruppe der Enterobacteriaceae (Tab. 33, Abb. 52) waren die größten Konzentrationsunterschiede vor und nach der Fütterung festzustellen. Diese Gruppe wies mit Ausnahme der Station C-Oberfläche signifikante Unterschiede an allen Stationen auf.

Tab. 33: Konzentrationsmittelwerte (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Bakterien in der Wassersäule, die auf dem ENDO-C-Medium vor und 10 min. nach der Fütterung bestimmt wurden. Angaben zu den Stationen in Abb. 6.

Stationen	vorher	Vk	10' nachher	Vk
C-Oberfläche	1829500	83	1988250	106
C	811	88	4011	22
R - 0	544	85	1674	87
C - 0	1117	103	3610	63
C - 10	137	49	2490	63

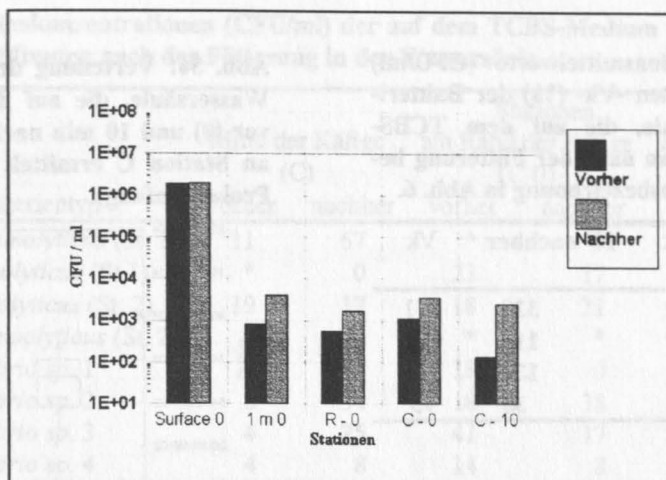


Abb. 52: Konzentrationsunterschiede der Bakterien in der Wassersäule, die auf ENDO-C vor und 10 min nach der Fütterung ermittelt wurden. Angaben zu den Stationen in Abb. 6.

Abb. 53 zeigt in einer logarithmischen Skala die Verteilung der auf dem ENDO-C-Medium gewachsenen Bakterien im Umkreis von bis zu 10 m von den Käfigen, vor und 10 min nach der Fütterung. Die Verteilung dieser Bakterien weist einen signifikanten Unterschied auf ($P < 0,001$).

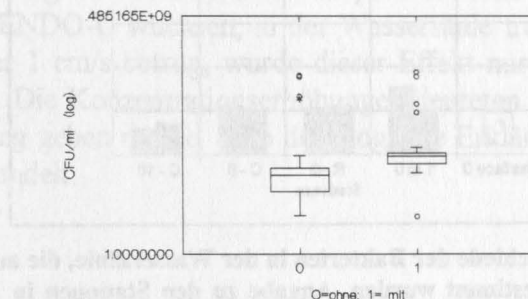


Abb. 53: Konzentrationsverteilung der gesamten Bakterien in der Wassersäule, die auf dem ENDO-C-Medium vor (0) und 10 min nach (1) der Fütterung ermittelt wurden. Die Daten sind in Tab. 18 dargestellt. Angabe zu den Stationen in Abb. 6. (Semilogarithmische Darstellung).

TCBS

In Tab. 34 und Abb. 54 sind die Konzentrationen der auf TCBS gewachsenen Bakterien vor und 10 min. nach der Fütterung dargestellt. Obwohl ein deutlicher Unterschied zu erkennen ist, gibt es keinen signifikanten Unterschied für die Gesamtheit der Proben ($P=0,972$). Für Station C war ebenfalls kein signifikanter Unterschied nachweisbar ($P=0,163$).

Tab. 34: Konzentrationsmittelwerte (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Bakterien in der Wassersäule, die auf dem TCBS-Medium vor und 10 min nach der Fütterung bestimmt wurden. Stationsbezeichnung in Abb. 6.

Station	vorher	Vk	10' nachher	Vk
C	93	59	328	171
R - 0	127	61	117	103
C - 0	104	65	132	121
C - 10	55	76	38	95

Abb. 54: Verteilung der Bakterien in der Wassersäule, die auf dem TCBS-Medium vor (0) und 10 min nach (1) der Fütterung an Station C ermittelt wurden (gesamter Probenumfang).

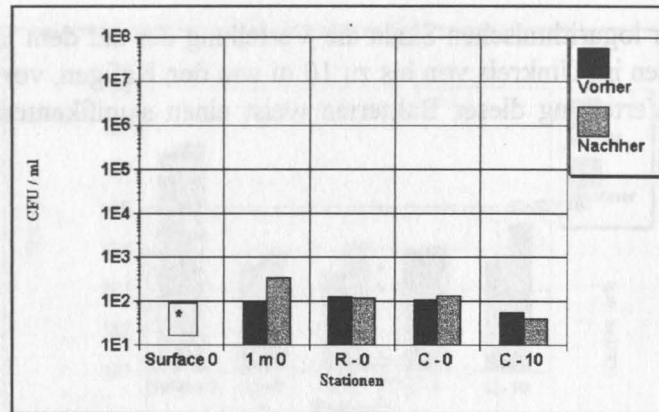
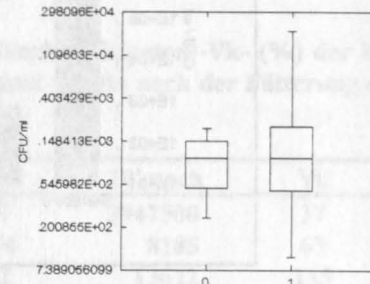


Abb. 55: Konzentrationsunterschiede der Bakterien in der Wassersäule, die auf TCBS vor und 10 min nach der Fütterung bestimmt wurden. Angabe zu den Stationen in Abb. 6. * Keine Proben.

In Tab. 35 sind die am häufigsten isolierten Arten aufgeführt. Man kann erkennen, daß von den identifizierten Kolonien *V. parahaemolyticus* (Stamm 1) und *Vibrio* sp. (Stamm 2 und 3) im Bereich der Käfige dominant waren.

Tab. 35: Bakterienkonzentrationen (CFU/ml) der auf dem TCBS-Medium entwickelten Kulturen vor und 10 Minuten nach der Fütterung in der Wassersäule.

Bakterientyp	Stationen					
	Mitte der Käfige (C)		am Rand der Käfige (C-0)		10 m von den Käfigen entfernt (C-10)	
	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher
<i>V. parahaemolyticus</i> (St. 1)	11	67	*	*	0	0
<i>V. alginolyticus</i> (St.1)	*	0	23	17	0	7
<i>V. alginolyticus</i> (St. 2)	19	17	18	21	28	7
<i>V. parahaemolyticus</i> (St. 2)	0	0	*	*	0	0
<i>Vibrio</i> sp. 1	0	0	18	0	5	0
<i>Vibrio</i> sp. 2	8	34	18	38	0	0
<i>Vibrio</i> sp. 3	4	25	41	17	14	7
<i>Vibrio</i> sp. 4	4	8	14	8	0	0
<i>Vibrio</i> sp. 5	0	34	0	13	0	21
Andere	30	455	14	25	5	7

* anwesend

Die Steigerung der Bakterienkonzentrationen auf dem TCBS-Medium nach der Fütterung war für die gesamte Gruppe nicht signifikant. Es gab jedoch einzelne Arten, z.B. *V. parahaemolyticus* und *Vibrio* spp., die erhöhte Konzentrationen aufwiesen.

Während der Fütterung der Fische wurden hauptsächlich die Bakterien, die auf den Medien ZoBell, TSA und ENDO-C wuchsen, in der Wassersäule freigesetzt. Da die Stömungsgeschwindigkeit unter 1 cm/s betrug, wurde dieser Effekt nur im unmittelbaren Bereich der Käfige beobachtet. Die Konzentrationserhöhungen deuteten darauf hin, daß es eine Quelle für diese Freisetzung geben mußte. Eine der mögliche Erklärungen für diesen Anstieg wird im Kapitel 4.3 behandelt.

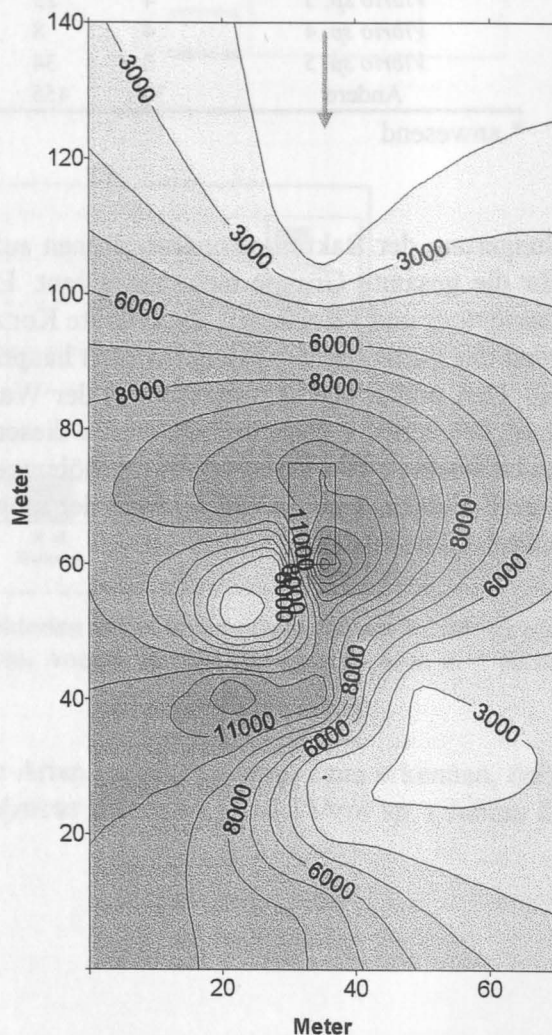
4.1.3.5 Änderung der Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaften in unmittelbarer Umgebung der Käfiganlage

Die auf den verschiedenen Nährböden bestimmten Bakterienkonzentrationen zeigten erhebliche Unterschiede in der Verteilung in der direkten Umgebung der Anlage. In den Abb. 56, Abb. 57, Abb. 58 und Abb. 59 sind die Bakterienkonzentrationen auf den verschiedenen Nährböden im Einzugsbereich der Käfiganlage vergleichend dargestellt.

ZoBell

Die Bakterien, die auf ZoBell-Medium wuchsen, zeigten eine heterogenere Verteilung als die anderen Gruppen (Abb. 56). Eine Beziehung zwischen den Bakterienkonzentrationen und den Wassermassen, damit den Käfigen in Berührung kamen, war nicht auszuschließen.

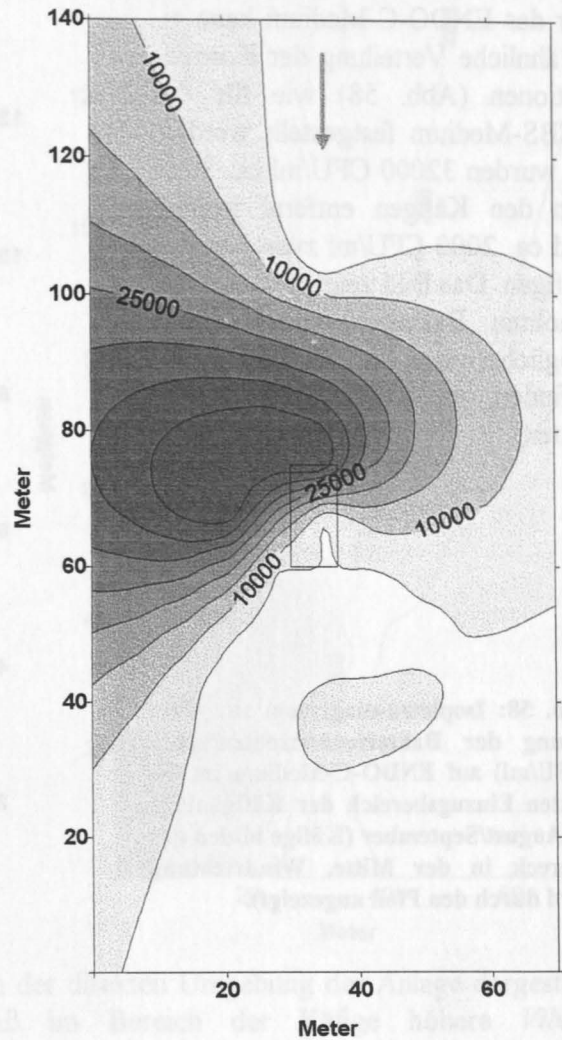
Abb. 56: Isoplethendiagramm zur Verteilung der Bakterienkonzentrationen (CFU/ml) auf dem ZoBell-Medium im direkten Einzugsbereich der Käfiganlage im August/September (Käfige bilden das Viereck in der Mitte, Windrichtung wird durch den Pfeil angezeigt).



TSA

Die auf dem TSA-Medium festgestellten Bakterienabundanzen zeigten eine höhere Konzentration in den Wassermassen, die die Käfige noch nicht durchflossen hatten (Abb. 57). Dieses Verhalten zeigt, daß diese Bakteriengruppe keine Beziehung zu den kontaktierten Wassermassen hat.

Abb. 57: Isopletendiagramm zur Verteilung der Bakterienkonzentrationen (CFU/ml) auf dem TSA-Medium im direkten Einzugsbereich der Käfiganlage im August/September (Käfige bilden das Viereck in der Mitte und Windrichtung durch den Pfeil gezeigt).



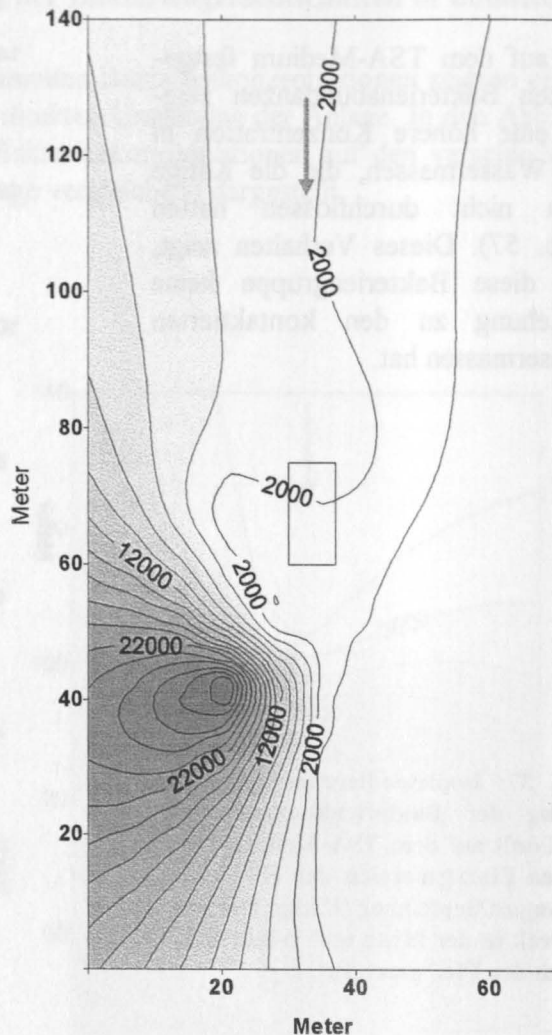
Tab. 36: Bakterienkonzentrationen (CFU/ml) auf dem TSA-Medium in der Wassersäule in der Wassersäule des Zuchtbehälters der in der Windrichtung ausgerichteten Käfiganlage.

	Tiefenbereich							
	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	60-70	70-80
<i>V. parvulus</i> (St. 1)	2	4	15	130	50	5	5	5
<i>V. alginolyticus</i> (St. 1)	2	5	5	5	5	5	5	5
<i>V. alginolyticus</i> (St. 2)	12	5	5	5	5	5	5	5
Werte sp. 1	15	5	5	5	5	5	5	5
Werte sp. 2	12	5	10	5	5	5	5	5
Werte sp. 3	2	5	5	5	5	5	5	5
Werte sp. 4	2	5	5	5	5	5	5	5
Werte sp. 5	2	10	20	5	5	5	5	5
Anzahl	17	4	15	5	5	5	5	5

ENDO-C

Für das ENDO-C-Medium kann eine ähnliche Verteilung der Konzentrationen (Abb. 58) wie für das TCBS-Medium festgestellt werden. Es wurden 32000 CFU/ml ca. 30 m von den Käfigen entfernt gezählt und ca. 2000 CFU/ml zwischen den Käfigen. Das Bild zeigt, daß sich die erhöhten Bakterienkonzentrationen möglicherweise in Wassermassen befinden, die Kontakt zur Anlage hatten.

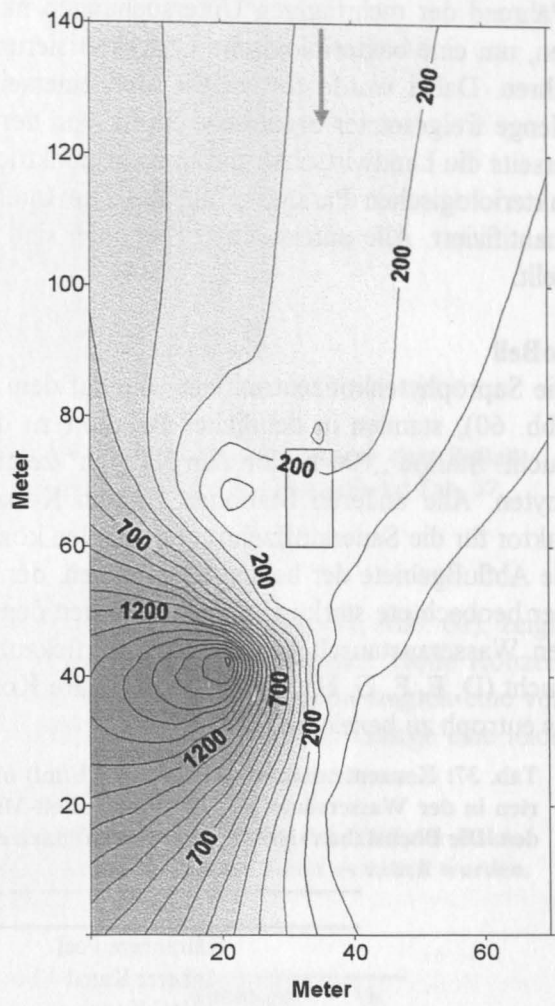
Abb. 58: Isoplethen-diagramm zur Verteilung der Bakterienkonzentrationen (CFU/ml) auf ENDO-C-Medium im direkten Einzugsbereich der Käfiganlage im August/September (Käfige bilden das Viereck in der Mitte, Windrichtung wird durch den Pfeil angezeigt).



TCBS

Die auf dem TCBS-Medium gewachsenen Bakterien zeigten eine Konzentration von ca. 200 CFU/ml in dem Wasserkörper, der die Käfige noch nicht erreicht hatte Abb. 59. In den Wassermassen, die die Käfige durchflossen hatten, stiegen die Bakterienkonzentrationen deutlich. Eine besonders hohe Konzentration wurde ca. 30 m von den Käfigen entfernt festgestellt.

Abb. 59: Isopletendiagramm zur Verteilung der Bakterienkonzentrationen (CFU/ml) auf dem TCBS-Medium im direkten Einzugsbereich der Käfiganlage im August/September (Käfige bilden das Viereck in der Mitte, Windrichtung wird durch den Pfeil angezeigt).



In Tab. 36 sind die auf dem TCBS-Medium am häufigsten isolierten Keime in der direkten Umgebung der Anlage dargestellt. Dabei konnte festgestellt werden, daß im Bereich der Käfige höhere *Vibrio*-Konzentrationen als in der Entfernung von 1000 m vorkommen. Der maximale Wert erreichte 150 CFU/ml in einer Entfernung von etwa 30 m von den Käfigen.

Tab. 36: Bakterienkonzentrationen (CFU/ml) auf dem TCBS-Medium in der Wassersäule in der Wassersäule des Einzugsbereiches der in der Wismarer Bucht untersuchten Käfiganlage.

	Stationen							
	C-0	C-10	C-20	C-30	C-50	100 m	1000 m	R-0
<i>V. parahaemolyticus</i> (St. 1)		4	18	150	50	*	6	3
<i>V. alginolyticus</i> (St.1)	5					*	3	5
<i>V. alginolyticus</i> (St. 2)	12		5		50		8	24
<i>Vibrio</i> sp. 1	15		5				3	5
<i>Vibrio</i> sp. 2	17		10					5
<i>Vibrio</i> sp. 3		2						8
<i>Vibrio</i> sp. 4		4						8
<i>Vibrio</i> sp. 5	2	13	29				3	5
Andere	17	6	18					63

4.1.3.6 Bakteriologische Charakterisierung der Bucht

Während der mehrtägigen Untersuchungen im August/September wurden Proben gewonnen, um eine bakteriologische Charakterisierung der Bucht und ihrer Umgebung durchzuführen. Dabei wurde festgestellt, daß einerseits die saprophytischen Bakterien die große Menge freigesetzter organischer Stoffe von der Stadt Wismar widerspiegeln und daß andererseits die Landwirtschaft durch nicht punktuelle Quellen einen erheblichen Einfluß auf die bakteriologischen Parameter ausübt. Die Interaktionen mit der Fischkulturanlage wurden quantifiziert. Alle untersuchten Stationen sind in Abb. 7 auf einer Karte der Bucht dargestellt.

ZoBell

Die Saprophytenkonzentrationen, die auf dem ZoBell-Medium bestimmt wurden (Tab. 37, Abb. 60), standen in deutlicher Relation zu den trophischen Verhältnissen der Wismarer Bucht. Station „100 m von den Käfigen“ zeigte die geringeren Konzentrationen an Saprophyten. Alle anderen Stationen zeigten Konzentrationen, die wiederum einen wichtigen Faktor für die Sauerstoffzehrung darstellen können. Die am meisten belasteten Areale waren die Abflußgebiete der beiden Kläranlagen, der Wismarer Hafen und der innere Kanal Poel. Der beobachtete starke Gradient zwischen den Stationen ist vermutlich auch auf den geringen Wasseraustausch in der Bucht zurückzuführen. Die Stationen der inneren Wismarer Bucht (D, E, F, G, H) hatten vergleichbare Konzentrationen, die nach Dutka & Rao (1980) als eutroph zu bezeichnen sind.

Tab. 37: Konzentrationsmittelwerte (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Bakterien in der Wassersäule, die auf dem ZoBell-Medium in der Wismarer Bucht ermittelt wurden. Die Buchstaben signalisieren die Stationen der Abb. 60.

Stationen		Mittelwert	Vk
Kläranlage Poel	A	2945833	202
Innerer Kanal	B	1130533	250
Poel Kanal	C	29844	143
zwischen Poel und Käfigen	D	13975	71
100 m von den Käfigen	E	3791	82
Käfige	F	19346	182
zwischen Käfigen und Wismar	G	26500	52
100 m von Wismar	H	20300	124
Kläranlage Wismar	I	1070000	12
Wismarer Hafen	J	3696214	226

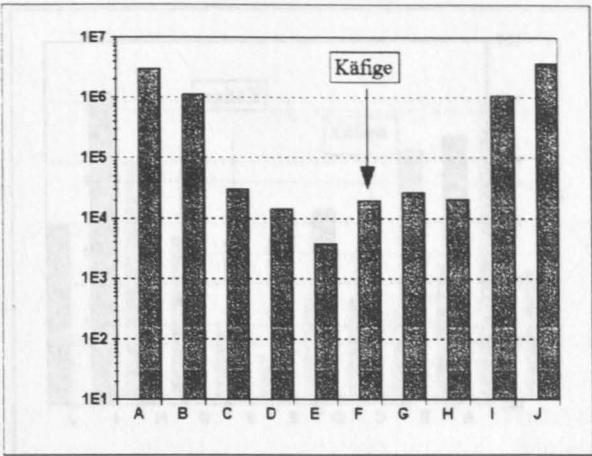


Abb. 60: Konzentrationen (CFU/ml) der Bakterien in der Wassersäule, die auf dem ZoBell-Medium in der Wismarer Bucht ermittelt wurden. Stationsbenennung entsprechend Tab. 37.

TSA

Die Bakteriengruppe, die auf dem TSA-Medium bestimmt wurde (Tab. 38, Abb. 61), zeigte die höchsten Konzentrationen im Bereich der Abflüsse beider Kläranlagen. Hohe Konzentrationen zeigten ebenfalls die Stationen B und G. Alle anderen Stationen zeigten eine vergleichbare Konzentration um 7000 CFU/ml, wobei im Bereich der Zuchtanlage eine leicht niedrigere Konzentration festgestellt wurde.

Tab. 38: Konzentrationsmittelwerte (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Bakterien in der Wassersäule, die auf dem TSA-Medium in der Wismarer Bucht ermittelt wurden. Die Buchstaben entsprechen den Stationen der Abb. 61.

Stationen		Mittelwert	Vk
Kläranlage Poel	A	266250	108
Innere Kanal	B	157105	308
Poel Kanal	C	3883	142
zwischen Poel und Käfigen	D	17094	116
100 m von den Käfigen	E	5324	76
Käfige	F	6112	74
zwischen Käfigen und Wismar	G	190639	40
100 m von Wismar	H	6925	97
Kläranlage Wismar	I	1455000	24
Wismarer Hafen	J	9125	78

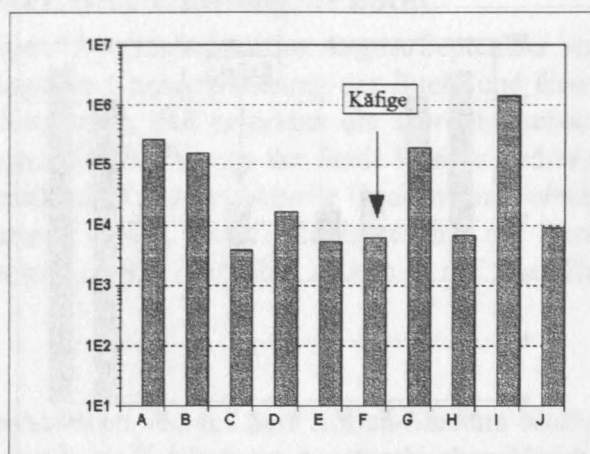


Abb. 61: Konzentrationen (CFU/ml) der Bakterien in der Wassersäule, die auf dem TSA-Medium in der Wismarer Bucht ermittelt wurden. Stationsbenennung entsprechend Tab. 38.

Enterobacteriaceae

Die auf dem ENDO-C-Medium gewachsenen Bakterien (Tab. 39, Abb. 62) zeigten sehr hohe Werte im Bereich der Abflüsse beider Kläranlagen. Der Wismarer Hafen hatte vergleichbare Konzentrationen mit der Station „100 m von Wismar“, was auf die geringere Belastung mit Fäkalien dieses Gebiets im Vergleich mit der Kläranlage hinweist. Im Bereich der Käfige und im Umkreis von 100 m wurde eine mittlere Konzentration festgestellt, die die Grenze für Badegewässer weit überschritt (1000 CFU/100 ml). Die Stationen C und D zeigten die niedrigsten Konzentrationen, da sie sich am weitesten entfernt von den fäkalen Quellen befanden. In Anbetracht der Tatsache, daß sich die Stationen E, F und G nicht in unmittelbarer Nähe fäkalen Quellen befanden, war die Konzentration im Bereich der Käfige relativ hoch.

Tab. 39: Konzentrationsmittelwerte (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Bakterien in der Wassersäule, die auf dem ENDO-C-Medium in der Wismarer Bucht ermittelt wurden. Die Buchstaben entsprechen den Stationen der Abb. 62.

Stationen		Mittelwert	Vk
Kläranlage Poel	A	176667	80
Innerer Kanal	B	16281	187
Poel Kanal	C	1083	114
zwischen Poel und Käfigen	D	375	47
100 m von den Käfigen	E	2280	89
Käfige	F	2422	80
zwischen Käfigen und Wismar	G	1675	76
100 m von Wismar	H	6625	93
Kläranlage Wismar	I	1244200	134
Wismarer Hafen	J	5875	96

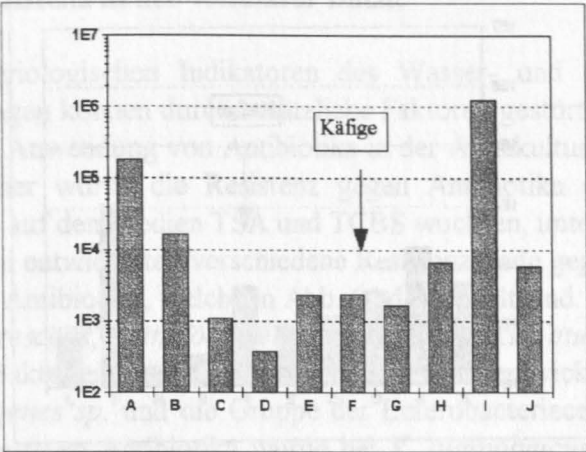


Abb. 62: Konzentrationen (CFU/ml) der Bakterien in der Wassersäule, die auf ENDO-C-Medium in der Wismarer Bucht ermittelt wurden. Stationsbenennung entsprechend Tab. 39.

TCBS

Die auf dem TCBS-Medium gewachsenen Bakterien zeigten während der Untersuchungen relativ hohe Konzentrationen im Bereich der Käfige (Tab. 40, Abb. 63). Diese Konzentrationen wurden nur an den Stationen „Kläranlage Wismar“, „Innerer Kanal Poel“ und im Abfluß der Kläranlage der Insel Poel überschritten. Die Station „Innerer Kanal Poel“ befand sich in unmittelbarer Umgebung der mit großen Forellen besetzten Käfige. Bemerkenswert war hier die hohe Konzentration an Bakterien, die auf dem TCBS-Medium wuchsen, gegenüber den benachbarten Stationen.

Tab. 40: Konzentrationsmittelwerte (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Bakterien in der Wassersäule, die auf dem TCBS-Medium in der Wismarer Bucht bestimmt wurden. Die Buchstaben entsprechen den Stationen der Abb. 63.

Stationen		Mittelwert	Vk
Kläranlage Poel	A	513	68
Innere Kanal	B	2063	160
Poel Kanal	C	375	47
zwischen Poel und Käfigen	D	150	185
100 m von den Käfigen entfernt	E	102	130
Käfige	F	473	217
zwischen Käfigen und Wismar	G	34	35
100 m von Wismar	H	22	92
Kläranlage Wismar	I	11800	0
Wismarer Hafen	J	68	98

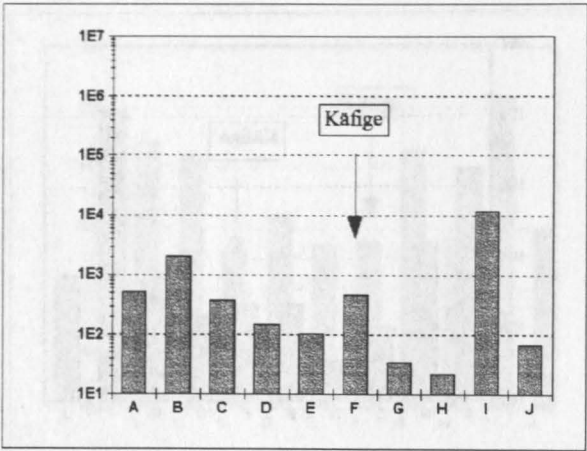


Abb. 63: Konzentrationen (CFU/ml) der Bakterien in der Wassersäule, die auf dem TCBS-Medium in der Wismarer Bucht bestimmt wurden. Stationsbenennung entsprechend Tab. 40.

Station		Wasser	
1	Wismarer Bucht	1	1000
2	Küsten	2	30
3	Wismarer Bucht	3	30
4	Wismarer Bucht	4	30
5	Wismarer Bucht	5	30
6	Wismarer Bucht	6	30
7	Wismarer Bucht	7	30
8	Wismarer Bucht	8	30
9	Wismarer Bucht	9	30
10	Wismarer Bucht	10	30
11	Wismarer Bucht	11	30
12	Wismarer Bucht	12	30
13	Wismarer Bucht	13	30
14	Wismarer Bucht	14	30
15	Wismarer Bucht	15	30
16	Wismarer Bucht	16	30
17	Wismarer Bucht	17	30
18	Wismarer Bucht	18	30
19	Wismarer Bucht	19	30
20	Wismarer Bucht	20	30
21	Wismarer Bucht	21	30
22	Wismarer Bucht	22	30
23	Wismarer Bucht	23	30
24	Wismarer Bucht	24	30
25	Wismarer Bucht	25	30
26	Wismarer Bucht	26	30
27	Wismarer Bucht	27	30
28	Wismarer Bucht	28	30
29	Wismarer Bucht	29	30
30	Wismarer Bucht	30	30
31	Wismarer Bucht	31	30
32	Wismarer Bucht	32	30
33	Wismarer Bucht	33	30
34	Wismarer Bucht	34	30
35	Wismarer Bucht	35	30
36	Wismarer Bucht	36	30
37	Wismarer Bucht	37	30
38	Wismarer Bucht	38	30
39	Wismarer Bucht	39	30
40	Wismarer Bucht	40	30
41	Wismarer Bucht	41	30
42	Wismarer Bucht	42	30
43	Wismarer Bucht	43	30
44	Wismarer Bucht	44	30
45	Wismarer Bucht	45	30
46	Wismarer Bucht	46	30
47	Wismarer Bucht	47	30
48	Wismarer Bucht	48	30
49	Wismarer Bucht	49	30
50	Wismarer Bucht	50	30
51	Wismarer Bucht	51	30
52	Wismarer Bucht	52	30
53	Wismarer Bucht	53	30
54	Wismarer Bucht	54	30
55	Wismarer Bucht	55	30
56	Wismarer Bucht	56	30
57	Wismarer Bucht	57	30
58	Wismarer Bucht	58	30
59	Wismarer Bucht	59	30
60	Wismarer Bucht	60	30
61	Wismarer Bucht	61	30
62	Wismarer Bucht	62	30
63	Wismarer Bucht	63	30
64	Wismarer Bucht	64	30
65	Wismarer Bucht	65	30
66	Wismarer Bucht	66	30
67	Wismarer Bucht	67	30
68	Wismarer Bucht	68	30
69	Wismarer Bucht	69	30
70	Wismarer Bucht	70	30
71	Wismarer Bucht	71	30
72	Wismarer Bucht	72	30
73	Wismarer Bucht	73	30
74	Wismarer Bucht	74	30
75	Wismarer Bucht	75	30
76	Wismarer Bucht	76	30
77	Wismarer Bucht	77	30
78	Wismarer Bucht	78	30
79	Wismarer Bucht	79	30
80	Wismarer Bucht	80	30
81	Wismarer Bucht	81	30
82	Wismarer Bucht	82	30
83	Wismarer Bucht	83	30
84	Wismarer Bucht	84	30
85	Wismarer Bucht	85	30
86	Wismarer Bucht	86	30
87	Wismarer Bucht	87	30
88	Wismarer Bucht	88	30
89	Wismarer Bucht	89	30
90	Wismarer Bucht	90	30

4.1.3.7 Antibiotikaresistenz in der Wismarer Bucht

Die möglichen bakteriologischen Indikatoren des Wasser- und Sedimentzustandes im Bereich von Käfiganlagen können durch zusätzliche Faktoren gestört werden. Ein wichtiger Faktor ist die häufige Anwendung von Antibiotika in der Aquakultur zur Bekämpfung bakterieller Erreger. Daher wurde die Resistenz gegen Antibiotika an den am häufigsten isolierten Keimen, die auf den Medien TSA und TCBS wuchsen, untersucht.

Die isolierten Gruppen entwickelten verschiedene Resistenzgrade gegen die in dieser Untersuchung eingesetzten Antibiotika, welche in Abb. 64 dargestellt sind.

Es wurde bei *P. fluorescens*, *Acinetobacter sp.* und besonders *Tatumella ptyseos* Multiresistenz festgestellt. Bakterien, die eine einzelne Resistenz entwickelten, waren *V. parahaemolyticus*, *Alcaligenes sp.* und die Gruppe der Enterobacteriaceae. Die höchste Sensitivität gegen alle getesteten Antibiotika wurde bei *V. alginolyticus* und *Enterobacter sp.* festgestellt.

Die Bakterien zeigten in den Untersuchungen generell eine höhere Resistenz gegenüber AMP (10 µg) und die höchste Sensitivität gegenüber C (30 µg).

Bei der zeitlichen Analyse der bakteriologischen Resistenzentwicklung konnten Unterschiede zwischen Mai und den anderen Monaten festgestellt werden ($P < 0,05$). Im Mai wurde bei allen angewendeten Antibiotika eine hohe Resistenz nachgewiesen, während im Juni, Juli und Aug./Sept. unterschiedliche Resistenzen beobachtet wurden. Bei C (10 µg und 30 µg) und OT (30 µg) wurde eine mittlere Sensitivität gemessen, während für FR (50 µg und 100 µg) und AMP (10 µg) eine deutliche Resistenz festgestellt wurde. Hierbei stellte sich heraus, daß im Laufe der gesamten Untersuchung OT (30 µg) das wirksamste Antibiotikum und AMP (10 µg) das unwirksamste war (Abb. 65).

Die Resistenzentwicklung im Käfigbereich zeigte sowohl in der Wassersäule als auch im Sediment keinen signifikanten Unterschied ($P > 0,05$) im Vergleich zu den Stationen 70 m und 1000 m davon entfernt (Abb. 66). Die gesamte bakterielle Gemeinschaft zeigte an allen Stationen eine höhere Sensitivität auf C (10 µg und 30 µg) und OT (30 µg). Eine nicht signifikant unterschiedliche Resistenz gegenüber AMP (10 µg) wurde an den Referenzstationen des Sedimentes und der Wassersäule sowie an den anderen Sedimentstationen festgestellt. Dies weist auf eine mögliche natürliche Resistenz gegenüber diesem Antibiotikum hin. Es wurde auch eine Resistenz gegenüber FR (50 µg und 100 µg) in der Wassersäule an allen Stationen festgestellt.

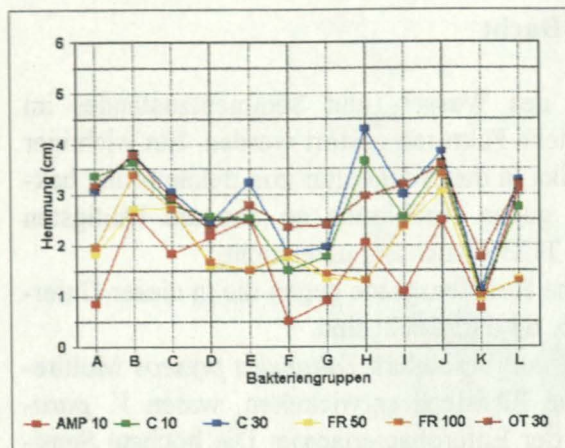


Abb. 64: Durchschnittliche Sensitivität gegen Antibiotika der einzelnen Bakteriengruppen aus der Wassersäule und des Sediments während des Untersuchungszeitraumes im Bereich der Aquakulturanlage der Wismarer Bucht, 1994. *Vibrio parahaemolyticus*=A; *Vibrio alginolyticus*=B; *Vibrio* sp.=C; *A. sobria*=D; *Pseudomonas* sp.=E; *Pseudomonas fluorescens*=F; *Acinetobacter* sp.=G; *Alcaligenes* sp.=H; Enterobacteriaceae=I; *Enterobacter* sp.=J; *Tatumella ptyseos*=K; andere=L. (0,5 = Vollresistenz).

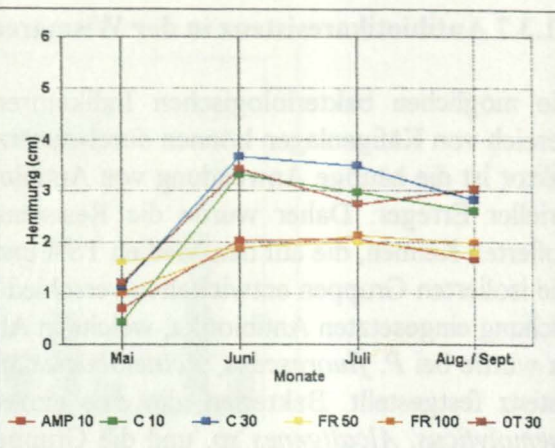


Abb. 65: Durchschnittliche Sensitivität von Bakterien gegen Antibiotika aus der Wassersäule und des Sediments während des Untersuchungszeitraumes im Bereich der Aquakulturanlage der Wismarer Bucht, 1994 (0,5 = Vollresistenz).

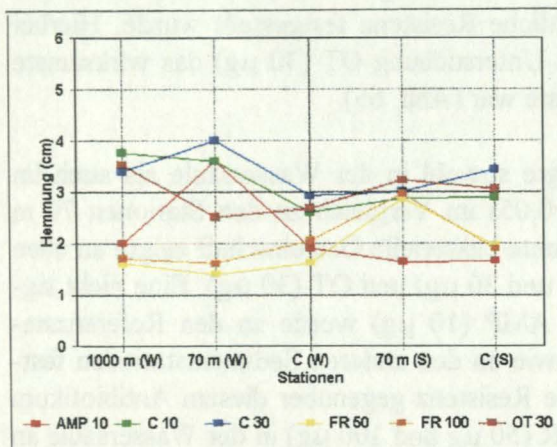


Abb. 66: Durchschnittliche Sensitivität von Bakterien gegen Antibiotika an verschiedenen Stationen der Wassersäule (1000 (W) = Wassersäule 1000 m von den Käfigen entfernt; 70 m (W) = Wassersäule 70 m von den Käfigen entfernt und C (W) = Wassersäule im Käfigbereich) und aus dem Sediment (70 m (S) = Sediment 70 m von den Käfigen entfernt und C (S) = Sediment im Käfigbereich) während des Untersuchungszeitraums im Bereich der Aquakulturanlage der Wismarer Bucht, 1994 (0,5 = Vollresistenz).

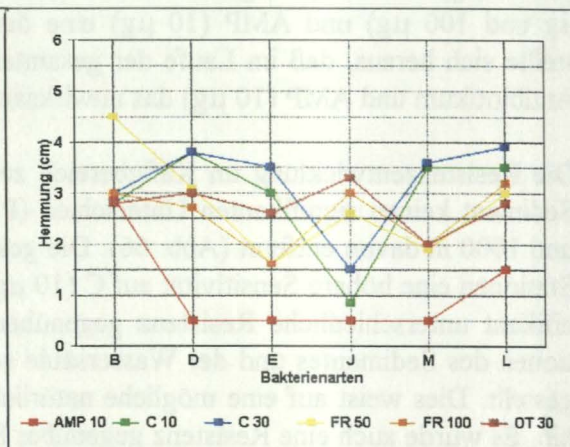


Abb. 67: Durchschnittliche Sensitivität gegen Antibiotika der einzelnen Bakteriengruppen aus Proben des Forellendarms. *V. alginolyticus* = B; *A. sobria*=D; *Pseudomonas* sp.= E; *Enterobacter* sp.= J; *A. salmonicida*= M; andere= L. (0,5 = Vollresistenz).

Die Betrachtung der gesamten untersuchten Keime in Abb. zeigte eine höhere Resistenzentwicklung in der Wassersäule als im Sediment ($P > 0,05$). OT (30 μg) und C (10 und 30 μg) erwiesen sich als die wirksamsten Antibiotika sowohl für die Sedimentgemeinschaften als auch für die aus der Wassersäule. Die höchste Resistenz wurde bei AMP (10 μg) festgestellt.

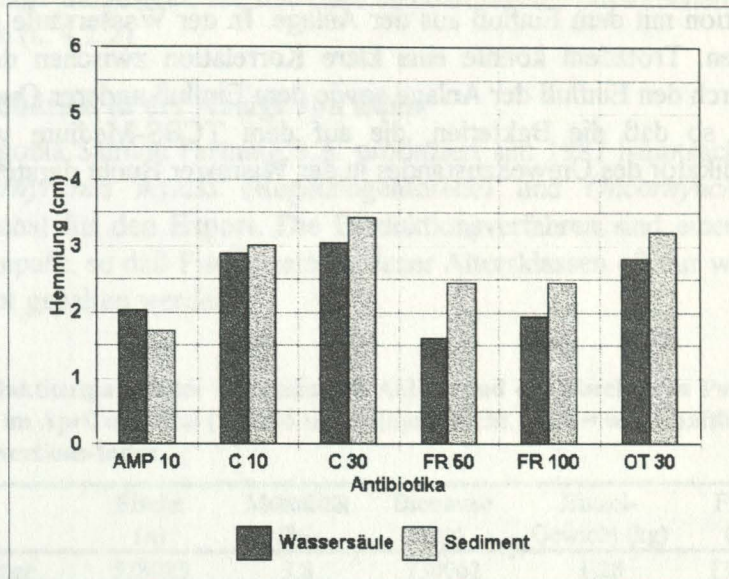


Abb. 68: Sensitivität aller isolierten Bakterien aus der Wassersäule und dem Sediment der Wismarer Bucht. (0,5 = Vollresistenz).

Im Juli, kurz vor dem Einsetzen des Fischsterbens, wurden aus dem Darm gerade verstorbener Forellen Isolate gewonnen. Es wurde eine absolute Resistenz bei vier von sechs Isolaten gegen AMP (10 μg) festgestellt (Abb. 67), wobei einige davon als fischpathogen zu bewerten sind (s. 4.1.3.1). Gegenüber den anderen Antibiotika zeigten die Isolate eine mittelmäßige Resistenz. C (30 μg) zeichnete sich bei vier von sechs Stämmen als das wirksamste Antibiotikum aus. Die aus dem Darm der Forellen isolierten *V. alginolyticus* zeigten für die Mehrheit der Antibiotika die höchste Sensitivität. *Enterobacter sp.* entwickelte bei AMP (10 μg) und C (10 und 30 μg) die höchste Resistenz.

Zusammenfassung der Untersuchungen aus der Wismarer Bucht

Die in dieser Bucht durchgeführten Untersuchungen zeigen, daß das Management der Fischzuchtanlage in der Wismarer Bucht besonders bei der Futterzusammensetzung und -abgabe dem neuesten Stand der modernen Aquakultur entsprach. Der Verzicht auf Antibiotikaawendungen 1994 wurde als positiv angesehen, wobei im Krankheitsfall sicherlich Behandlungen erfolgt wären. Die Form der Netze erwies sich jedoch als ungeeignet. Die Auswahl des Standortes erfolgte unter anderen politischen Umständen, so daß sie nicht als Teil des Managements gewertet wurde.

Die Wismarer Bucht zeigt sich als ein eutrophes System mit einem hohen „threshold value“ für sämtliche physikochemischen Parameter. Eine klare Trennung von Referenzstationen und den Zuchtanlagestandorten war nicht immer zu erkennen. Der Vergleich der physikochemischen Daten ergab generell eine schlechte Bewertung des Zustandes dieser Bucht.

Die Konzentrationen der Bakterien, die auf den Medien ZoBell und TSA wuchsen, wiesen Beziehungen zum trophischen Niveau der Bucht auf. Die Bakterien, die auf ENDO-C-Medien wuchsen, zeigten teilweise angepaßte Beziehungen zu den Einflüssen aus der Anlage. Sie reagierten jedoch schnell und kurzfristig auf andere organische Einträge. Die Bakterien, die auf dem TCBS-Medium wuchsen, zeigten in den Sedimentuntersuchungen eine sehr gute Korrelation mit dem Einfluß aus der Anlage. In der Wassersäule gab es weniger Übereinstimmungen. Trotzdem konnte eine klare Korrelation zwischen den Bakterienkonzentrationen durch den Einfluß der Anlage sowie dem Einfluß anderer Quellen der Bucht ermittelt werden, so daß die Bakterien, die auf dem TCBS-Medium wuchsen, einen angepaßten Bioindikator des Umweltzustandes in der Wismarer Bucht darstellen.

4.2 Ilque-Bucht

Im diesem Ergebnisteil werden die Daten zur Fischproduktion und zum Umweltzustand im Bereich der Anlage dargestellt, die mit Hilfe standardisierter physikochemischer Methoden ermittelt wurden (s. 4.2.2)

4.2.1 Fischproduktion in der Anlage von Ilque

Die Firma Patagonia Salmon Farming S.A. produziert seit 1987 hauptsächlich *Salmo salar* (Lachs), *Oncorhynchus mykiss* (Regenbogenforelle) und *Oncorhynchus tshawitscha* (Pazifischer Lachs) für den Export. Die Produktionsverfahren sind einer kontinuierlichen Produktion angepaßt, so daß Fische verschiedener Altersklassen oft nur wenige Meter voneinander entfernt gehalten werden.

Tab. 41: Produktionsparameter der gesamten Anlage und der Forelle von Patagonia Salmon Farming S.A. im April und Mai (*) 1995 in der Ilque-Bucht. FCA = wirtschaftlich akkumulierter Futterkonversions-Index.

	Fische (n)	Mortalität (%)	Biomasse (kg)	Einzel- Gewicht (kg)	Futter (kg)	FCA
Anlage	578025	3,8	730062	1,28	136725	1,60
Forellen	142802	11,6	92803	0,74	27900	1,39
Anlage *	569586	1,3	821773	1,54	159555	1,33
Forellen *	126263	1,2	114133	0,94	33105	1,61

Die angegebenen Produktionsdaten (Tab. 41) wurden zur Erstellung von Tab. 42 und Tab. 43 ebenfalls herangezogen. Tab. 42 enthält Daten der Flotille „Pontón Metálico-A“, die nur mit sterilen Weibchen *O. mykiss* besetzt worden war. Diese Flotille wurde erst im Februar 1995 im Untersuchungsgebiet positioniert (Abb. 4). Diese Tatsache bot ideale Voraussetzungen, um die primär auftretenden Effekte durch Sedimentation unter einer Käfiganlage zu untersuchen. Der untersuchte Bestand stammte aus importierten Donaldson-Eiern (Nordamerika), die zuvor in einer zweiten Anlage der Firma bebrütet und gehalten wurden. Die Fische wurden im November 1994 mit einem durchschnittlichen Einzelgewicht von 250 g nach Ilque gebracht und befanden sich ab Februar 1995 in der untersuchten Flotille.

Tab. 42: Produktionsparameter der untersuchten Flotille „Pontón Metálico-A“. Die Mortalität von November bis Februar betrug 3.57 %.

	Fische (n)	Biomasse (kg)	Einzelgewicht (kg)	Mortalität (%)	Futter (kg)
November	50000	12500	0,25	-	
Februar		35123		3,57	10425
März	48215	36202	0,73	4,25	11500
April	46166	35982 *	0,78	15,12	11075
Mai	39186	37169 *	0,90	1,82	14705

* modellierte Biomasse s. Abb. 69.

Tab. 43: Produktionsparameter der Ilque-Anlage für das Produktionsjahr 1995. # Produzent-angabe, *erwartet am Ende des Produktionsjahres

Anlage	Ilque
Kultivierte Arten	<i>O. mykiss</i> , <i>S. salar</i>
Gesamtproduktion	über 1000 t*
Produkt. untersuchte Flotille	84 t *
Anzahl der Fische	50000 (Anfang)
Biomasse untersuchte Flotille	12500 kg (Anfangs)
Vol. untersuchte Flotille	ca. 8000 m ³
Monatliche Futterangabe	ca. 14275 kg
Dichte	4,4 kg/m ³
Käfig Verankerung	fest (nicht rotierend)
Mortalität	1,3%*
FCR	ca. 1,3 #*

Da die Fische nicht gleichmäßig wachsen, werden regelmäßige Selektionsverfahren mit dem Ziel durchgeführt, die Fische nach Größe sortiert in verschiedenen Käfigen zu halten. Das erlaubt eine einheitliche Futtergabe und gewährleistet damit ein besseres Gesamtwachstum. Dieses Verfahren bedeutet für die Fische jedoch großen Streß und wird deswegen nur eingesetzt, wenn es unbedingt erforderlich ist.

Den hygienischen Bedingungen kommt besondere Aufmerksamkeit zu. Vor Betreten der Anlage müssen mehrere Desinfektionsschritte durchlaufen werden. Auf diese Weise wird die Verbreitung von Krankheiten verringert. Damit keine hygienischen Probleme für den gesunden Bestand auftreten, und um eine exakte Kontrolle über die Fischzahl in den Käfigen zu gewährleisten werden die verstorbenen Fische bei Taucheinsätzen mindestens einmal pro Woche aus den Käfigen entfernt.

Dennoch bleiben zwei bedeutende Verschmutzungsquellen. Bei der Schlachtung der Fische werden die Abwässer in die Umgebung gegossen. Hiervon wird nach modernen Management-Richtlinien aufgrund des dadurch erhöhten Krankheitsrisikos abgeraten (ICES, 1995). Das andere Problem stellt die Reinigung der Netze dar, die in einer Waschmaschine am Strand von ihrem Bewuchs befreit werden. Die bei dem Wasch-prozeß entstandenen Abwässer werden ungeklärt ins Meer geleitet. Abhängig von der Gezeitenströmung fließt es in verschiedene Richtungen ab. Die enthaltenen Schwebstoffe, die einen starken Einfluß auf die Trübung des Wassers und vermutlich auch auf andere Parameter haben, können eine Gefahr für die in der Nähe gehaltenen Fische darstellen.

Da sich die Angaben zur Biomasse immer nur auf die Werte zu Monatsende beziehen (monatliche Gewichtsproben), wurde eine Funktion über den geschätzten Verlauf des täglichen Gewichtswachstums erstellt (Abb. 69). Dabei wurde die erwartete Produktion der Firma berücksichtigt.

Die täglich verabreichte Futtermenge betrug durchschnittlich 1,30 % der Biomasse mit Extremwerten zwischen 0,42 % und 2,22 %. Ein Futterkonversions-Index von 8,3 wurde im März ermittelt.

$$\text{Biomasse} = A + B \cdot \text{Tag} + C \cdot \text{Tag}^2 + D \cdot \text{Monat}^3$$

Parameter	Estimate
A	11924.536
B	562.039
C	-4.328
D	0.011

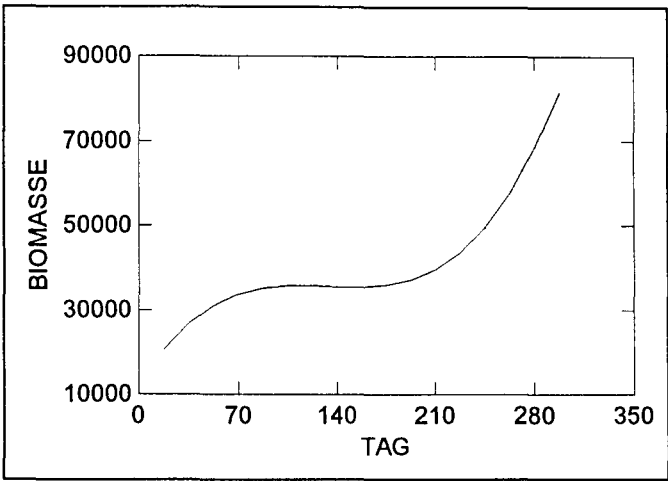


Abb. 69: Modellierte Biomassensteigerung in der untersuchten Anlage der Ilque-Bucht.

4.2.2 Physikalische und chemische Meßparameter

Die Beurteilung des Umweltzustandes im Einzugsbereich der Anlage in der Ilque-Bucht erfolgte mittels folgender standardisierten Parameter.

Tiefe und Salinität

Die Anlage befand sich in einer Bucht mit einem leichten Gefälle (3 %) und starken Tidenhub. Die Wassertiefen an den verschiedenen Stationen wurden bei mittleren Wasserstand (M.W.) bestimmt: Station 1: 26 m, Station 2: 25 m, Station 3: 28 m, Station 4: 25 m. Die Wassertiefe an der Referenzstation lag bei 25 m. Zwischen der untersuchten Flotille und dem Sediment betrug die Wassertiefe bei Ebbe 19-22 m, so daß die minimale Distanz zwischen Netzen und Sediment bei 8 bis 9 m lag. Die Salzgehalt betrug 32 und zeigte keine signifikante Schwankung im Untersuchungszeitraum.

Temperatur

In der Ilque-Bucht wurde ein deutlicher, vertikaler Temperaturgradient festgestellt. Ursache dafür ist eine typische Sommerschichtung. Die Temperatursprungschicht lag im März 1995 bei 8-10 m. (Abb. 70).

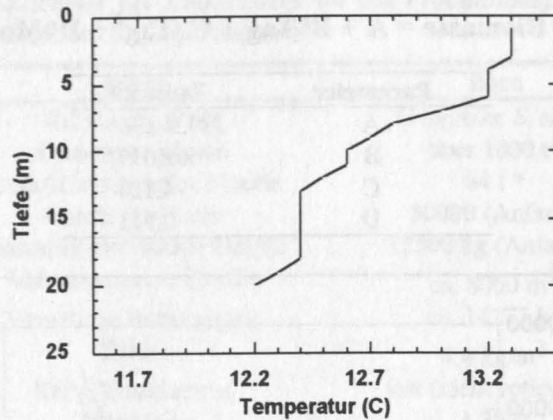


Abb. 70: Temperaturprofil der Wassersäule am 23.3.95 zwischen den Käfigen in der Ilque-Bucht.

Es wurde festgestellt, daß die Käfige mit ihren Netzen eine Verwirbelung der Wassermassen erzeugen. Dies hat zur Folge, daß die Schichtung innerhalb der Käfige aufgehoben wurde und ein Temperatursprung nicht mehr festgestellt werden konnte. An der Referenzstation, die 250 m von den Käfigen entfernt lag, konnte aber eine normale Schichtung der Temperatur in der Wassersäule festgestellt werden (ca. 8 m Tiefe) (Abb. 71).

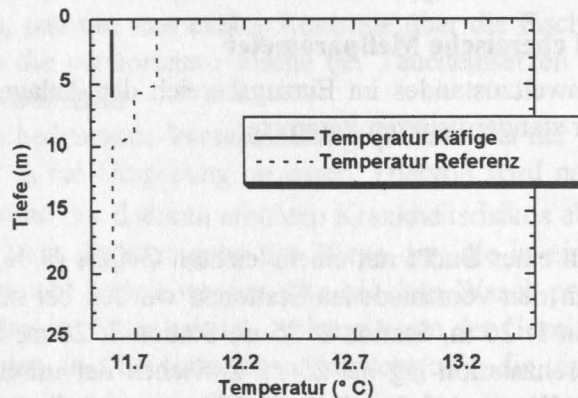


Abb. 71: Temperaturprofil der Wassersäule am 19.4.1995 zwischen den Käfigen in der Ilque-Bucht

Im Gegensatz zur Wismarer Bucht weist die Ilque-Bucht nicht so extreme Temperaturschwankungen im Wasser auf. Hinsichtlich der in Ilque nur gering vorhandenen Temperaturschwankungen sind folgende Faktoren zu nennen: Das Areal der Ilque-Bucht wird mit Wasser aus dem Pazifischen Ozean versorgt. Diese Wassermassen, die vom Humboldtstrom stark beeinflusst werden, bilden sich hauptsächlich im antarktischen Meer. Eine Untersuchung von Jaramillo & Pino (1993) zeigt, daß sich in der Ilque-Bucht die Oberflächentemperatur zwischen 8°C (Winter) und 19°C (Sommer) bewegt. Abb. 72 zeigt die Wassertemperatur in der Ilque-Bucht im chilenischen Spätsommer 1995. Dabei ist ein leichter Temperaturrückgang zu verzeichnen.

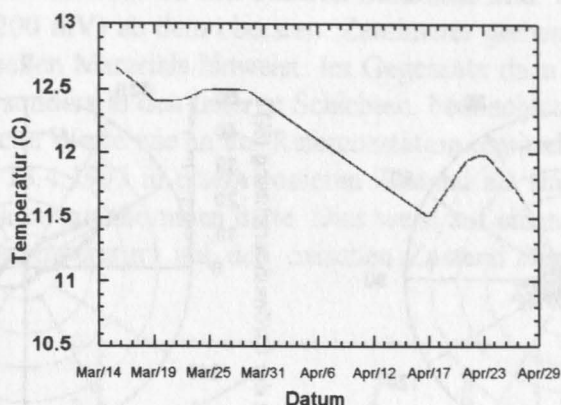


Abb. 72: Wassertemperatur in einer Wassertiefe von 8m in der Ilque-Bucht, Spätsommer 1995.

Strömungsrichtung und -geschwindigkeit

Abb. 73 zeigt die Werte der Strömungsrichtung und -geschwindigkeit in einer Tiefe von 14 m an. Die Höchstgeschwindigkeit der Strömung im Zeitraum vom 16.3.1995 bis 24.3.1995 erreichte 18 cm/s. Es ist ein deutlicher Tideneinfluß auf die Strömungsausrichtung zu erkennen. Die Strömung fließt überwiegend in Richtung 300° und 120° (Abb. 74).

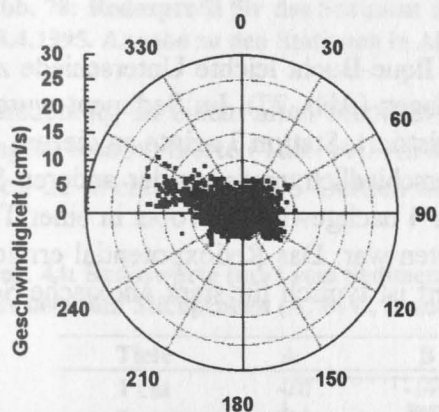


Abb. 73: Strömungsrichtung und -geschwindigkeit in einer Wassertiefe von 14 m. Ilque-Bucht 16. - 24.3.1995 (II-III)

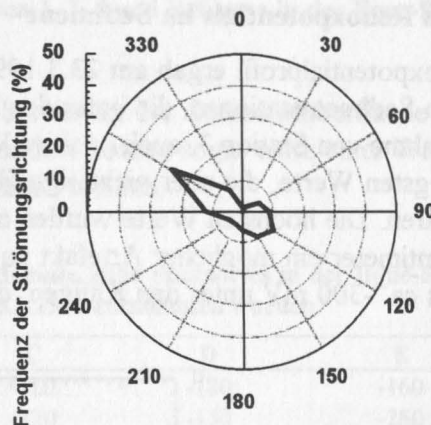


Abb. 74: Verteilung (%) der Strömungsrichtung in einer Wassertiefe von 14 m. Ilque-Bucht 16. - 24.3.1995 (II-III).

Abb. 75 und Abb. 76 zeigen die Werte der Strömungsrichtung und -geschwindigkeit für die Tiefe von 5 m für den Zeitraum zwischen dem 18.4.1995 und dem 28.4.1995. In diesem Zeitraum wurden Geschwindigkeiten bis zu 24 cm/s gemessen. Die Häufigkeitsverteilungen der Strömungsgeschwindigkeit zeigen aber, daß sich die Strömung hauptsächlich in dem Bereich 1-2 cm/s befand. Die Frequenzanalyse der Richtung in der Tiefe von 5 m zeigt keine signifikanten Unterschiede zur Richtung der Strömung in der Tiefe von 14 m. Somit wurde festgestellt, daß die Positionierung der Strömungsmesser nicht im Strömungsschatten der Käfige lag. Die Strömungen fließen hauptsächlich in Richtung 270°-300°, eine zweite Mode wurde in dem Sektor 90°-120° festgestellt. Diese Ergebnisse spiegeln deutlich den Tideneinfluß in dem Gebiet wider, in dem die untersuchte Flotille lag.

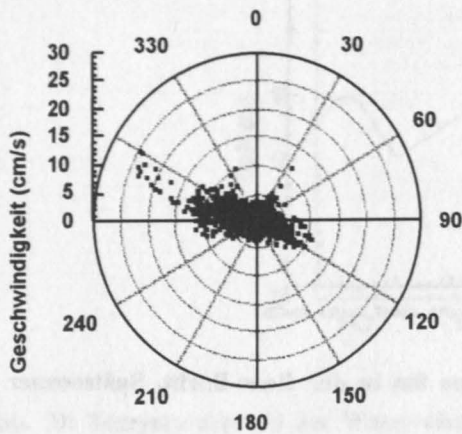


Abb. 75: Strömungsrichtung und -geschwindigkeit in einer Wassertiefe von 5 m. Ilque-Bucht 18. - 28.4.1995 (IV-V)

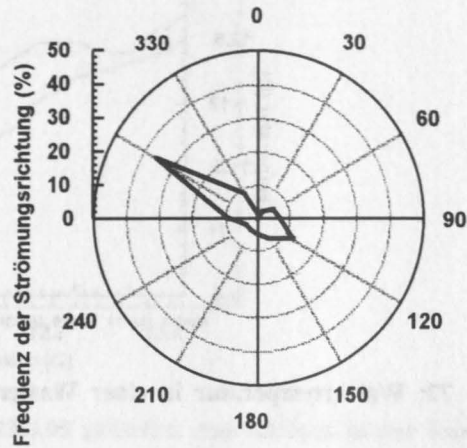


Abb. 76: Verteilung (%) der Strömungsrichtung in einer Wassertiefe von 5 m. Ilque-Bucht 18. - 28.4.1995 (IV-V)

Profil des Redoxpotentials im Sediment

Das Redoxpotentialprofil ergab am 23.3.1995 in der Ilque-Bucht leichte Unterschiede zwischen den Sedimentstationen, die unter den Käfigen lagen (Abb. 77). Im Sediment wurden, mit Ausnahme von Station 3, auch positive Werte registriert. Station 3 zeigte an diesem Tag die niedrigsten Werte, die aber nicht signifikant unterschiedlich zu denen der anderen Stationen waren. Die höchsten Werte wurden an Station 4 nachgewiesen, wobei in einer Tiefe von 4-Zentimeter ein möglicher Artefakt zu beobachten war. Das Redoxpotential erreichte Werte bis ca. -300 mV unter den Käfigen, dieser Wert ist typisch für stark anoxische Sedimente.

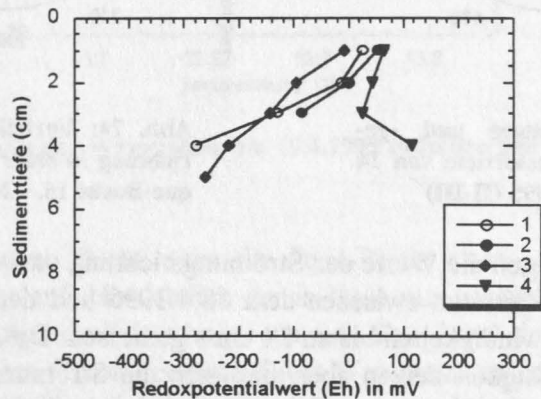


Abb. 77: Redoxprofil für das Sediment der Stationen 1, 2, 3 und 4 in der Ilque-Bucht, 23.3.1995. Angabe zur Stationen in Abb. 8.

Am 18.4.1995 wurde ein zweites Redoxprofil erstellt (Abb. 78), welches, im Vergleich zum Vormonat, größere Unterschiede zeigte. Bei dieser Untersuchung war es nicht möglich, Proben an Station 3 zu entnehmen. Die minimalen Werte sind an Station 1 zu beobachten,

welche signifikant unterschiedlich zu den anderen Stationen sind. Es wurden bei Station 1 negative Werte (ca. -200 mV) ab dem obersten Zentimeter gemessen, was auf eine starke Sedimentation organischen Materials hinweist. Im Gegensatz dazu wurde an der Station 2 eine Verbesserung, besonders in den tieferen Schichten, beobachtet. Dies trifft ebenfalls für Station 4 zu, wo ähnliche Werte wie an der Referenzstation ermittelt wurden. Das Sediment befand sich somit am 18.4.1995 in einem besseren Zustand als ein Monat davor, und das, obwohl die Fischbiomasse zugenommen hatte. Dies weist auf einen Einfluß von Umweltparametern (u.a. Wassertemperatur) auf den oxischen Zustand des Sedimentes der Ilque-Bucht hin.

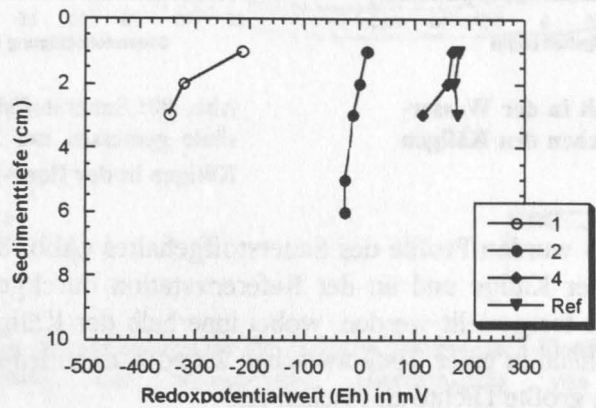


Abb. 78: Redoxprofil für das Sediment der Stationen 1, 2, 4 und Referenz in der Ilque-Bucht, 18.4.1995. Angabe zu den Stationen in Abb. 8.

Untersuchung an einem alten Standort ergaben bereits an der Sedimentoberfläche deutlich geringere Redox-Werte (Tab. 44). An diesem Standort konnte sogar trotz einer Wassertiefe von ca. 22 m ein starker H_2S -Geruch wahrgenommen werden.

Tab. 44: Redoxwerte (mV) vom Sediment unterhalb eines alten Standortes in der Ilque-Bucht, aus dem fünf Stichproben (A, B, C, D und E) am 23.3.1995 entnommen wurden.

Tiefe	A	B	C	D	E
1 cm	-10	-140	-180	-180	-160
2 cm	-140	-270	-220	-150	-260
3 cm	-290	-300	-275	-195	*

*Keine gewonnenen Daten.

Sauerstoffsättigung und -gehalt

Aufgrund des sehr warmen Sommers 1994 und der damit verbundenen Sauerstoffzehrung in der Fischanlage der Wismarer Bucht wurden auch in der Ilque-Bucht der Sauerstoffgehalt sowie die Sauerstoffsättigung gemessen.

Dabei wurde eine Abnahme des Sauerstoffgehaltes (Abb. 79) und der -sättigung (Abb. 80) in den oberflächennahen Wasserschichten in den Käfignetzen festgestellt.

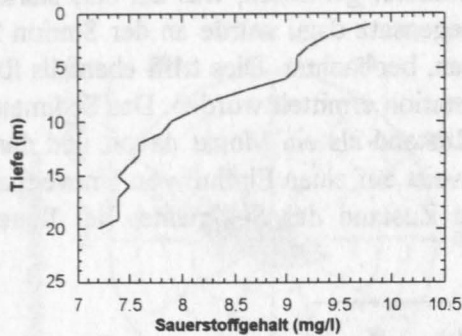


Abb. 79: Sauerstoffgehalt in der Wassersäule am 23.3.1995 zwischen den Käfigen in der Ilque-Bucht.

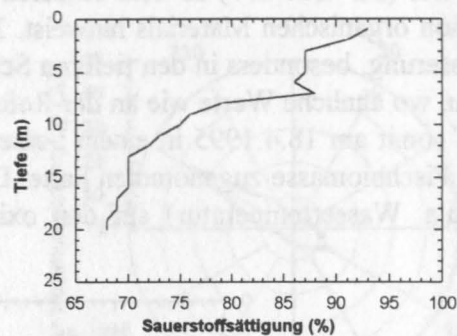


Abb. 80: Sauerstoffsättigung in der Wassersäule gemessen am 23.3.1995 zwischen den Käfigen in der Ilque-Bucht.

Am 18. und 19.4.1995 wurden Profile des Sauerstoffgehaltes (Abb. 81) und der -sättigung (Abb. 82) innerhalb der Käfige und an der Referenzstation durchgeführt. Dabei konnten deutliche Unterschiede festgestellt werden, wobei innerhalb der Käfignetze geringere Konzentrationen hauptsächlich in einer Tiefe zwischen 2 und 5 m auftraten. In diesem Bereich trat normalerweise die größte Dichte an Fischen auf.

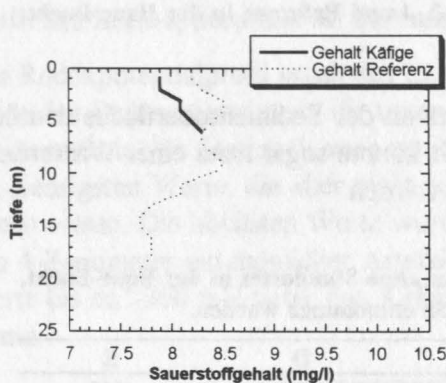


Abb. 81: Sauerstoffgehalt in der Wassersäule, gemessen am 18. und am 19.4.1995 zwischen den Käfigen und an der Referenzstation in der Ilque-Bucht.

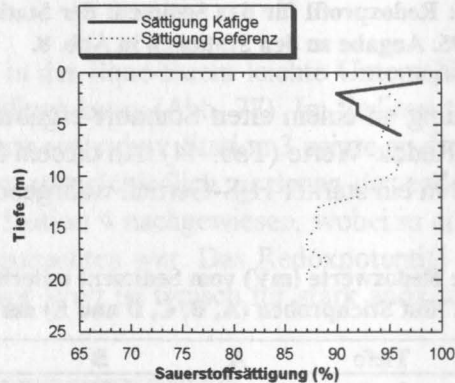


Abb. 82: Sauerstoffsättigung in der Wassersäule, gemessen am 18. und am 19.4.1995 zwischen den Käfigen und an der Referenzstation in der Ilque-Bucht.

Simulation der Sedimentation

Die Belastung an den einzelnen Stationen durch das Modell wurde wie folgt geschätzt: Station 1: $17 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, Station 2: $13 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, Station 3: $17 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, Station 4: $7 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, 8m von der Station 3 entfernt: $3 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, 18 m von der Station 3 entfernt: $<1 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ und an der Referenzstation: $<1 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$. Das Programm kalkulierte einen maximalen Sedimentationswert von $22 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ unter den Käfigen. Die Sedimentationsdarstellung (Abb. 83) ergab deutliche Hinweise auf eine sehr beschränkte Sedimentation unter den Käfigen. Die Simulation ergab ebenfalls eine theoretische maximale Akkumulation bis zum 30.3.1995 von 1320 g C m^{-2} seit Beginn der Anwendung dieses Standortes im Februar 1995.

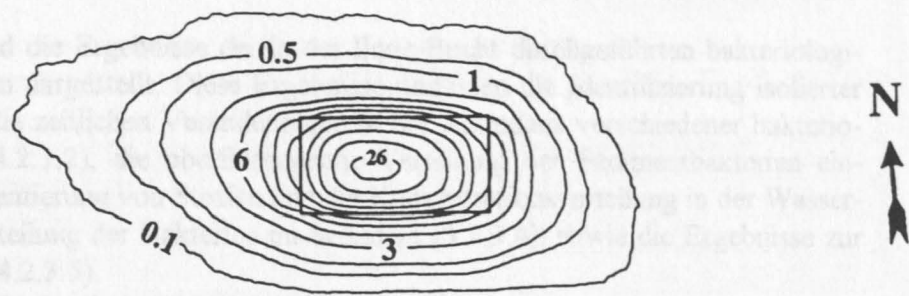


Abb. 83: Simulation der Sedimentation der in Ilque untersuchten Flotille. Simulation und graphische Darstellung mit freundlicher Genehmigung von Dr. M. Hevia.

4.2.3 Untersuchung zur Bakteriologie des Wassers und des Sediments

In diesem Kapitel sind die Ergebnisse der in der Ilque-Bucht durchgeführten bakteriologischen Untersuchungen dargestellt. Diese Ergebnisse umfassen die Identifizierung isolierter Bakterien (4.2.3.1), die zeitlichen Veränderungen in der Abundanz verschiedener bakteriologischer Gruppen (4.2.3.2), die oberflächennahe Verteilung der Sedimentbakterien einschließlich der Sedimentierung von Stoffen und die Konzentrationsverteilung in der Wassersäule, die Vertikalverteilung der Bakterien im Sediment (4.2.3.4), sowie die Ergebnisse zur Antibiotikaresistenz (4.2.3.5).

4.2.3.1 Vorkommen einzelner Bakteriengruppen in der Ilque Bucht

In der Ilque-Bucht wurden die bakteriologischen Arbeiten auf die Untersuchung des Sediments konzentriert. Dieser Schwerpunkt wurde aufgrund folgender Überlegungen gewählt: Zum einen deuteten erste Ergebnisse aus der Untersuchung in Wismar auf einen aussagekräftigeren Bezug des Sediments zum Umweltzustand, im Gegensatz zur Wassersäule. Zum anderen erwies sich in der Ilque-Bucht, im Vergleich zur Wismarer Bucht, die Strömungsdynamik als viel stärker und ausgeprägter; daher war der Einfluß anderer Zuchtflotillen in der Wassersäule nur schwer auszuschließen.

Für die Quantifizierung von Bakterien wurden die Nährböden TCBS, TSA, ENDO-C und ZoBell verwendet; für die Isolierung wurden die Nährböden TSA und TCBS eingesetzt.

Die in Tab. 45 aufgeführten Kolonien wurden in der Ilque-Bucht am häufigsten auf den Medien TCBS und TSA isoliert. Um doppelte Beschreibungen zu vermeiden, werden hier nur die Kolonien beschrieben, die nicht bereits unter Punkt 4.1.3.1 dargestellt wurden. Die Darstellung beinhaltet die taxonomische Zuordnung der Bakterien und ihre Bedeutung für die Aquakultur.

Die auf den Medien TCBS und TSA am häufigsten isolierten Arten waren:

1. *Vibrio alginolyticus*, 2. *Vibrio tubiashii*, 3. *Vibrio spp.*, 4. *Pseudomonas sp.* und 5. *Pseudomonas paucimobilis*. Andere: Unter anderem traten zahlreiche Arten der Gattung *Pseudomonas* und *Aeromonas* auf, die jedoch nicht von quantitativer Bedeutung waren.

Die Familie Vibrionaceae und die Gattung *Vibrio* wurden unter 4.1.3.1 detailliert beschrieben. Die Gattung *Vibrio* erwies sich als eine im Bereich der untersuchten Aquakulturanlage sehr abundante Gruppe. Der einzige in Ilque isolierte Vertreter dieser Gattung, der nicht in der Wismarer Bucht isoliert wurde, war *Vibrio tubiashii*. Die Arten *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio sp.* und *Pseudomonas sp.* wurden schon in Kapitel 4.1.3.1 ausführlich beschrieben.

Tab. 45: Vorkommen einzelner, isolierter Arten auf den Medien TCBS und TSA an den verschiedenen Untersuchungstagen in der Ilque Bucht. Die Schattierung zeigt die Konzentration der jeweiligen Arten an.

	<i>Vibrio tubiashii</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Bordetella/Alcaligenes</i>	<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>
23. März			3		
6. April			Ref.	4	
19. April	Ref.	1-Ref.			Ref.
21. April	18 m	8 m			
Konzentrationsbereich (CFU/ml)		Farbkode			
nicht isoliert					
1 - 9					
10 - 99					
100 - 999					
> 1000					

Vibrio tubiashii.

Wichtige Merkmale für die Aquakultur: *V. tubiashii* wurde in der Literatur nicht als fischpathogen beschrieben und ist für die Aquakultur offenbar ohne Bedeutung.

Kolonienform: Diese Art wuchs auf beiden Nährböden. *V. tubiashii* hatte in der Ilque-Bucht eine relevante Bedeutung im Vergleich zu den anderen, häufig isolierten Kolonien. Diese Art wurde nicht in der Wismarer Bucht isoliert.

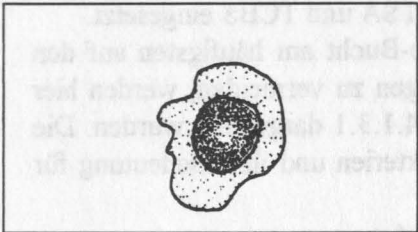


Abb. 84: Kolonienform des *Vibrio tubiashii*-Stammes, der in der Ilque-Bucht isoliert wurde.

4.2.3.2 Zeitliche Veränderungen

Es wurden alle gewonnenen Daten zum Nachweis dessen analysiert, ob sich die Bakterienkonzentrationen innerhalb der Untersuchungszeit im Sediment und in der Wassersäule in Bezug auf eine Änderung des Umweltzustandes ändern.

Im untersuchten Zeitraum wurden keine signifikanten physikochemischen Schwankungen festgestellt. Die Biomasse der untersuchten Flotille zeigte einen leichten Anstieg über den gesamten Zeitraum hinweg.

Die Ergebnisse sind den vier verwendeten Nährböden entsprechend getrennt dargestellt, mit dem Ziel, einen Vergleich zwischen ihnen zu ermöglichen.

ZoBell Sediment

Die Konzentrationen zeigten starke Streuungen im Käfigbereich (Tab. 46, Abb. 85). Diese deuten darauf hin, daß ein schnelles bakterielles Wachstum zwischen dem 23.3.1995 und den 11.4.1995 stattfand. Es konnten nur wenige signifikante Unterschiede zwischen den untersuchten Tagen festgestellt werden.

Tab. 46: Mittelwerte (CFU/cm³) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Konzentrationen der Bakterien des Sedimentes, die auf dem ZoBell-Medium in der Umgebung der Fischkulturanlage ermittelt wurden. Angaben zu den Stationen in Abb. 8.

Stationen	23.3.95	Vk	11.4.95	Vk	20.4.95	Vk
1	5832	132	1996500	141	12385000	259
2	2516	122	4306357	245	155000	90
3	4857	160	7489167	146	820000	89
4	96	22	1486750	113	1718750	90
Referenz	*	*	735625	112	2250000	135

* Keine Probe gewonnen

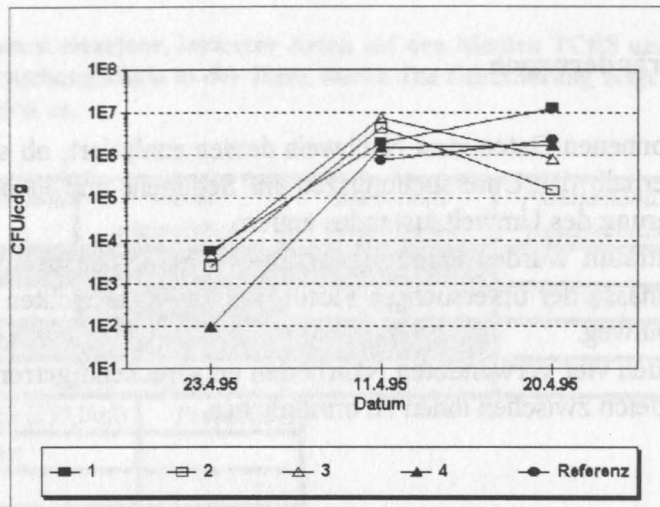


Abb. 85: Mittelwerte der Bakterienkonzentrationen des Sediments, die auf dem ZoBell-Medium im Sommer/Herbst 1995 in der Ilque Bucht ermittelt wurden. Angaben zu den Stationen in Abb. 8. (Semilogarithmische Darstellung)

Die einzigen signifikanten ($P < 0,05$) Konzentrationsunterschiede wurden an Station 1 (Abb. 86) und an Station 3 (Abb. 87) zwischen dem 23.3.1995 und dem 11.4.1995 ermittelt.

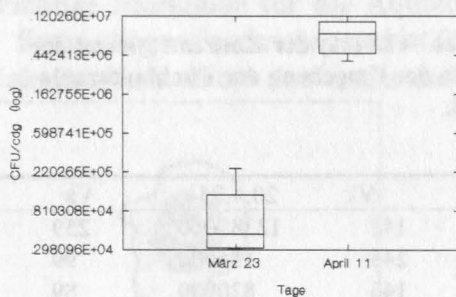


Abb. 86: Semilogarithmische Darstellung der Verteilung der Konzentrationen am 23.3.1995 und am 11.4.1995 an Station 1 auf dem ZoBell-Medium.

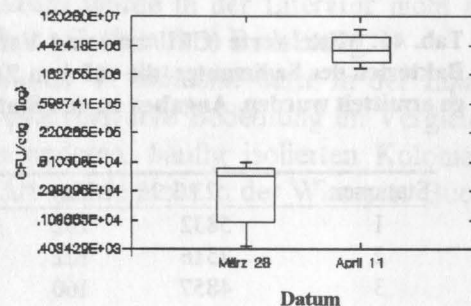


Abb. 87: Semilogarithmische Darstellung der Verteilung der Konzentrationen am 23.3. 1995 und am 11.4.1995 an Station 3 auf dem ZoBell-Medium

Wassersäule

In der Wassersäule wurden erhebliche Konzentrationsunterschiede nachgewiesen (Tab. 47, Abb. 88). Die großen Varianzkoeffizienten der Messungen führten in diesem Fall jedoch nicht zu signifikanten Unterschieden der Konzentrationen zwischen dem 23.3.1995 und dem 11.4.1995.

Tab. 47: Mittelwerte (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Konzentrationen der Bakterien in der Wassersäule, die auf dem ZoBell-Medium in der Umgebung der Fischkulturanlage im Herbst 1995 ermittelt wurden. Angaben zu den Stationen in Abb. 8.

Stationen	23.3.95	Vk	11.4.95	Vk
1	763	191	31500	139
2	625	90	2750	116
3	6762	162	25	141
4	13752	198	3025	139
Käfigmitte	97051	114	50	0

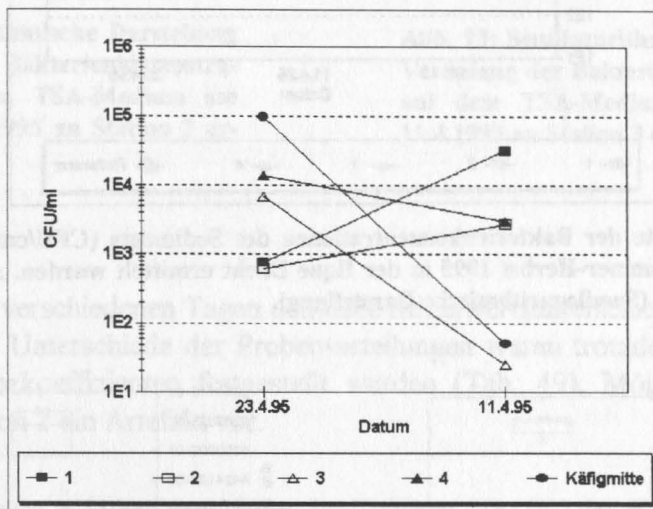


Abb. 88: Mittelwerte der Bakterienkonzentrationen in der Wassersäule, die auf ZoBell-Medium im Herbst 1995 in der Ilque Bucht ermittelt wurden. Angaben zu den Stationen in Abb. 8. (Semilogarithmische Darstellung).

TSA

Sediment

Die Konzentrationen der auf dem TSA-Medium gewachsenen Kolonien (Tab. 48, Abb. 89) zeigten signifikante Unterschiede an Station 1 zwischen dem 23.3.1995 und 11.4.1995 (Abb. 90), und zwischen dem 11.4.1995 und 20.4.1995 (Abb. 91). An Station 2 wurden signifikante Unterschiede zwischen dem 23.3.1995 und 11.4.1995 (Abb. 92) und an Station 3 (Abb. 93) zwischen dem 23.3.1995 und 11.4.1995 nachgewiesen.

Tab. 48: Mittelwerte und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Konzentrationen der Bakterien des Sedimentes (CFU/cm³), die auf dem TSA-Medium Anfang Herbst 1995 in der Umgebung der Fischkulturanlage von Ilque ermittelt wurden. Angaben zu den Stationen in Abb. 8.

Stationen	23.3.95	Vk	11.4.95	Vk	20.4.95	Vk
1	30828	250	1771750	112	541250	241
2	6054	273	453429	154	111875	136
3	6608	5	3049312	141	368750	100
4	7714	183	2335819	132	182500	144
Referenz	*	*	90375	104	34063	174

* Keine Probe gewonnen

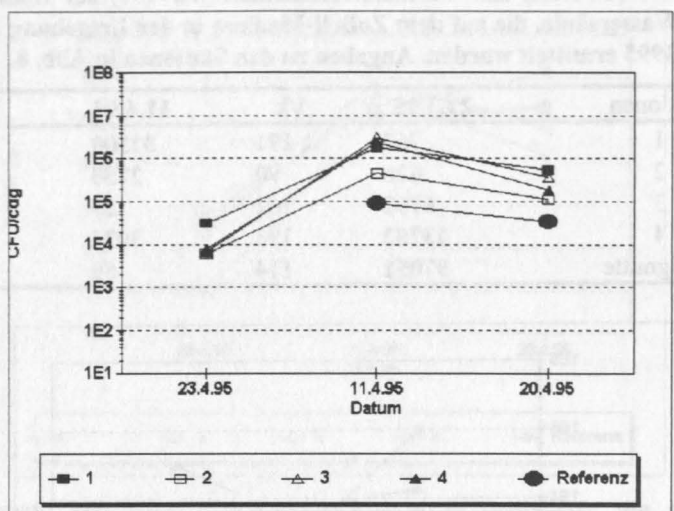


Abb. 89: Mittelwerte der Bakterienkonzentrationen des Sediments (CFU/cm³), die auf dem TSA-Medium im Sommer-Herbst 1995 in der Ilque Bucht ermittelt wurden. Angaben zu den Stationen in Abb. 8. (Semilogarithmische Darstellung).

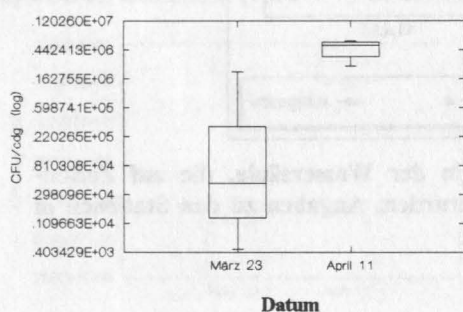


Abb. 90: Semilogarithmische Darstellung der Verteilung der Bakterienkonzentrationen, die auf dem TSA-Medium am 23.3.1995 und 11.4.1995 an Station 1 ermittelt wurden.

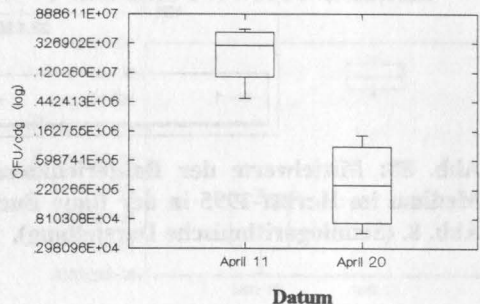


Abb. 91: Semilogarithmische Darstellung der Verteilung der Bakterienkonzentrationen, die auf dem TSA-Medium am 11.4.1995 und 20.4.1995 an Station 1 ermittelt wurden.

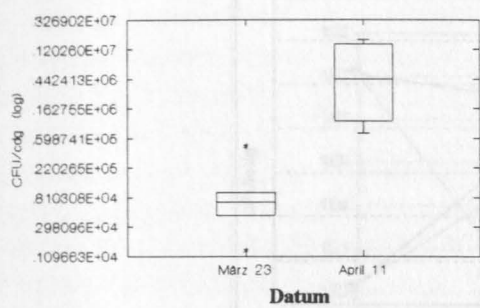


Abb. 92: Semilogarithmische Darstellung der Verteilung der Bakterienkonzentrationen, die auf dem TSA-Medium am 23.3.1995 und 11.4.1995 an Station 2 ermittelt wurden.

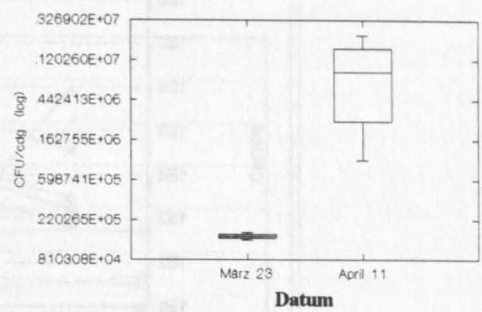


Abb. 93: Semilogarithmische Darstellung der Verteilung der Bakterienkonzentrationen, die auf dem TSA-Medium am 23.3.1995 und 11.4.1995 an Station 3 ermittelt wurden.

Wassersäule

Es wurden an den verschiedenen Tagen deutliche Mittelwertsunterschiede beobachtet (Tab. 49, Abb. 94). Die Unterschiede der Probenverteilungen waren trotzdem nicht signifikant, weil große Varianzkoeffizienten festgestellt wurden (Tab. 49). Möglicherweise lag am 11.4.1995 an Station 2 ein Artefakt vor.

Tab. 49: Mittelwerte (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Konzentrationen der Bakterien der Wassersäule, die auf dem TSA-Medium in der Umgebung der Fischkulturanlage ermittelt wurden. Angabe zu den Stationen in Abb. 8.

Stationen	23.3.95	Vk	11.4.95	Vk	20.4.95	Vk
1	1600	176	21188	163	25	200
2	876	192	4937	115	25	200
3	3168	194	24238	121	25	200
4	920151	200	50	0	2144073	120
Käfigmitte	33533	166	556225	195	1781666	128
Referenz	*	*	157750	113	*	*

* Keine Probe gewonnen

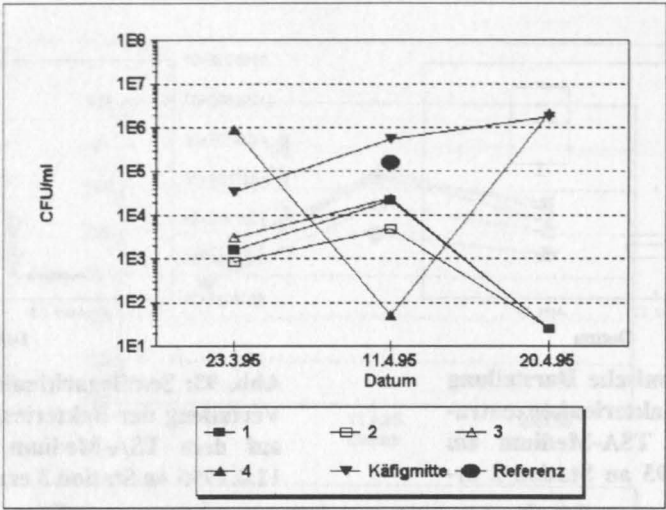


Abb. 94: Mittelwerte der Bakterienkonzentrationen der Wassersäule, die auf TSA-Medium im Sommer/Herbst 1995 in der Ique Bucht ermittelt wurden. Angaben zu den Stationen in Abb. 8. (Semilogarithmische Darstellung).

ENDO-C

Sediment

Bei der Gruppe der auf dem ENDO-C-Medium gewachsenen Bakterien (Tab. 50, Abb. 95) konnten keine signifikanten Konzentrationsunterschiede während des Untersuchungszeitraums festgestellt werden.

Tab. 50: Mittelwerte (CFU/cm³) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Konzentrationen der Bakterien im Sediment, die auf dem ENDO-C-Medium in der Umgebung der Fischkulturanlage im Herbst 1995 ermittelt wurden. Angaben zu den Stationen in Abb. 8.

Stationen	23.3.95	Vk	20.4.95	Vk
1	80	208	266	140
2	306	219	177	206
3	2836	189	3000	118
4	*	*	49	141
Referenz	*	*	49	141

* Keine Probe gewonnen

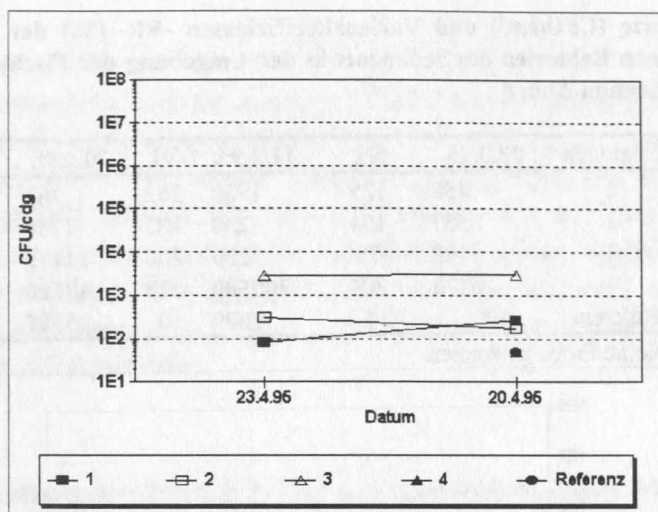


Abb. 95: Mittelwerte der Bakterienkonzentrationen im Sediment (CFU/cm³), die auf dem ENDO-C-Medium im Herbst 1995 in der Ilque Bucht ermittelt wurden. Angaben zu den Stationen in Abb. 8. (Semilogarithmische Darstellung).

Wassersäule

Die auf dem ENDO-C-Medium gewachsenen Bakterien zeigten sehr niedrige Konzentrationen und keine signifikanten Unterschiede in der Wassersäule während des Untersuchungszeitraums (Tab. 51).

Tab. 51: Semilogarithmische Darstellung der Mittelwerte (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Konzentrationen der Bakterien der Wassersäule, die auf dem ENDO-C-Medium in der Umgebung der Fischkulturanlage im Herbst 1995 ermittelt wurden. Angaben zu den Stationen in Abb. 8.

Stationen	23.3.95	Vk	20.4.95	Vk
1	<10	0	5	0
2	<10	0	6	85
3	<10	0	1	141
4	<10	0	2	141
Käfigmitte	<10	0	5	0

TCBS

Sediment

Im Sediment wurden signifikante Konzentrationsunterschiede, der auf dem TCBS-Medium gewachsenen Bakterien im Laufe der Untersuchung festgestellt. Tab. 52 zeigt die Mittelwerte und Varianzkoeffizienten der Konzentrationen. In Abb. 96 sind die Ergebnisse graphisch dargestellt.

Tab. 52: Mittelwerte (CFU/cm³) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der auf dem TCBS-Medium gewachsenen Bakterien des Sediments in der Umgebung der Fischkulturanlage. Angaben zu den Stationen in Abb. 8.

Stationen	23.3.95	Vk	11.4.95	Vk	20.4.95	Vk
1	458	129	1938	252	787	92
2	557	194	250	185	7700	78
3	192	79	250	200	21475	78
4	3173	204	300500	218	40626	69
Referenz	*	*	1000	0	5587	90

* Keine Probe gewonnen

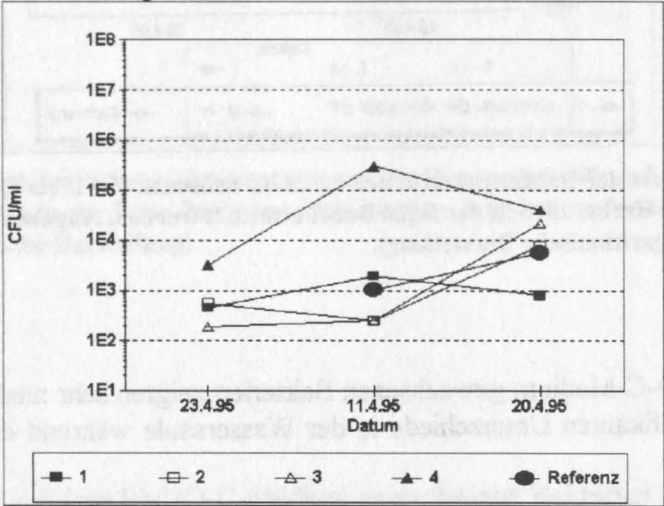


Abb. 96: Mittelwerte der Bakterien, die auf dem TCBS-Medium im Sommer/Herbst 1995 im Sediment der Iquee Bucht ermittelt wurden. Angaben zu den Stationen in Abb. 8. (Semilogarithmische Darstellung).

Es konnte nur für Station 2 eine signifikant höhere Konzentration am 20.4.1995 gegenüber dem 23.3.1995 festgestellt werden (Abb. 97). An den anderen Stationen (1, 3, 4) wurden keine signifikanten Unterschiede ermittelt.

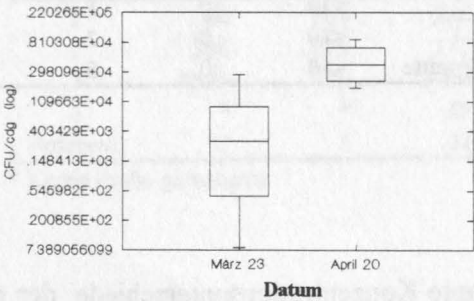


Abb. 97: Semilogarithmische Darstellung der Verteilung der Bakterienkonzentrationen in den Sedimentproben von Station 2, die auf dem TCBS-Medium am 23.3.1995 und 20.4.1995 ermittelt wurden.

Wassersäule

Die Wassersäulenkonzentrationen der auf dem TCBS-Medium gewachsenen Kolonien lagen am 23.3.1995 unterhalb der Meßgenauigkeit. Am 11.4.1995 wurde eine heterogene Verteilung festgestellt (Tab. 53), wobei an der Station 1 und zwischen den Käfigen die höchsten Konzentrationen ermittelt wurden. Am 20.4.1995 wurden nur an Station 1 Proben entnommen. Das Ergebnis lag jedoch wieder unter der Meßgenauigkeit. Signifikante Unterschiede konnten zwischen dem 23.3.1995 und dem 11.4.1995 (für Station 1 auch am 20.4.1995) festgestellt werden. Die Arten, die an den verschiedenen Tagen in der Ilque Bucht isoliert wurden, sind in Tab. 45 dargestellt.

Tab. 53: Mittelwertkonzentrationen (CFU/ml) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Bakterien der Wassersäule, die auf dem TCBS-Medium in der Umgebung der Fischkulturanlage ermittelt wurden. Angaben zu den Stationen in Abb. 8.

Stationen	23.3.95	Vk	11.4.95	Vk	20.4.95	Vk
1	<10	#	183	171	<10	#
2	<10	#	11	110	*	*
3	<10	#	39	132	*	*
4	<10	#	<10	141	*	*
Käfigmitte	*	*	697	121	*	*
Referenz	<10	#	*	*	*	*

* Keine Probe gewonnen

Nicht kalkulierbar

Vergleich der Bakterienkonzentrationen mit Produktionsdaten und physikochemischen Variablen

Die auf den Medien ZoBell und TSA ermittelten Bakterienkonzentrationen zeigten eine deutliche Erhöhung an den Sedimentstationen zwischen dem 23.3.1995 und 11.4.1995. Wegen des unterschiedlichen Kurvenverlaufs hat der Anstieg der Saprophytenkonzentrationen keine positive Beziehung zum Anstieg der Fischbiomasse.

Die Konzentrationserhöhungen der auf den Medien ZoBell und TSA gewachsenen Kolonien traten in demselben Zeitraum auf, in dem die Fische einer Antibiotikatherapie zur Behandlung eines *Piscirickettsia salmonis*-Ausbruch, unterzogen worden. In diesem Zeitraum wurde durch die geringere Bereitschaft der Fische zur Futteraufnahme eine schlechtere FCR (8,3 im März) ermittelt, die wiederum eine höhere Sedimentierung verursachte.

Sowohl im Sediment als auch in der Wassersäule konnten nur geringe Konzentrationen der auf dem ENDO-C-Medium gewachsenen Kolonien festgestellt werden, möglicherweise aufgrund der Absenz fäkalen Quellen in der Nahe der Anlage. Es bestand keine Beziehung zu den physikochemischen Variablen und den verschiedenen Produktionsvariablen.

Generell konnte auf dem TCBS-Medium eine schnellere Änderung der bakteriellen Konzentrationen in den Wassersäulen als in den Sedimentproben beobachtet werden. Es bestand eine Beziehung zwischen den Konzentrationsänderungen im Sediment und der Zunahme der Fischbiomasse.

4.2.3.3 Untersuchungen im Oberflächenbereich

Es wurde getestet, inwieweit kleinräumige Unterschiede in den Bakterienkonzentrationen zwischen den Stationen für die einzelnen Nährmedien nachweisbar waren. Ein entsprechender Vergleich zwischen den verschiedenen Beprobungstagen konnte aufgrund der tidenbedingten Positionsänderung der Käfige nicht vorgenommen werden. Der Vergleich der Konzentrationen an den verschiedenen Tagen hätte sonst eine unübersichtliche Variabilität aufgezeigt, in der die kleinräumigen Unterschiede zwischen den Sedimentkonzentrationen möglicherweise nicht zu beobachten gewesen wären.

Entsprechend wurden in der Wassersäule die Stationsdaten aus der Tiefe von 1 m für die Analyse herangezogen.

Am 23.3.1995

Sediment

In Tab. 54 sind die statistischen Ergebnisse dargestellt, wobei die signifikanten Unterschiede ($P < 0,05$) besonders hervorgehoben wurden. Signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den Sedimentstationen konnten auf den Medien ZoBell und ENDO-C festgestellt werden.

Tab. 54: Korrelationsanalyse (Mann-Whitney / Kruskal-Wallis) für die Konzentration der Bakterienkulturen der Sedimente an allen Stationen am 23.3.1995. Besonders hervorgehoben: Signifikante Unterschiede ($P < 0,05$).

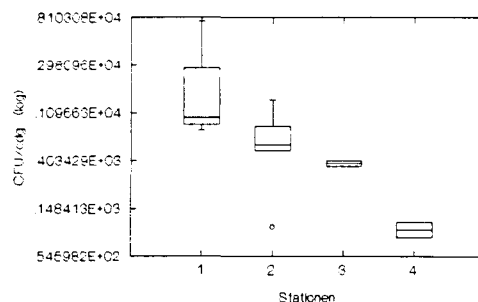
Datum	Medium	Verdünnung	Wahrscheinlichkeit
23.3.1995	TCBS	1/10	0.986
23.3.1995	TCBS	1/100	0.064
23.3.1995	TSA	1/10	0.878
23.3.1995	TSA	1/100	0.631
23.3.1995	ZoBell	1/10	0.043
23.3.1995	ZoBell	1/100	0.395
23.3.1995	ENDO-C	1/10	0.478
23.3.1995	ENDO-C	1/100	0.006

Die Verteilung der Konzentrationen auf ZoBell ist in Abb. 98, die der Mittelwerte und Varianzkoeffizienten in Tab. 55 dargestellt. Der einzige signifikante Unterschied wurde zwischen den Stationen 1 und 4 festgestellt ($P = 0,016$).

Tab. 55. Konzentration (CFU/cm³) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der am 23.3.95 auf dem ZoBell-Medium gewachsenen Bakterien aller untersuchten Sedimentstationen. Angaben zu den Stationen in Abb. 8.

Stationen	CFU/cm ³	Vk
1	2579	129
2	666	67
3	382	8
4	96	23

Abb. 98: Semilogarithmische Darstellung der Verteilung der auf dem ZoBell-Medium gewachsenen Bakterien des Sediments am 23.3.1995. Angaben zu den Stationen in Abb. 8.



Um die Signifikanz der Unterschiede in den Bakterienkonzentrationen, die auf dem ENDO-C-Medium ermittelt wurden (Tab. 54), zu testen, mußte ein „Ranking“ erfolgen (Zar 1996). Anschließend wurden ein ANOVA- und ein Tukey-Test durchgeführt. Dadurch konnten Unterschiede zwischen den Stationen 1 und 3 ($P=0,002$) sowie zwischen den Stationen 2 und 3 ($P=0,001$) festgestellt werden (Tab. 56).

Tab. 56. Konzentrationen (CFU/cm³) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der auf ENDO-C-Medium gewachsenen Bakterien an den untersuchten Sedimentstationen am 23.3.1995. Angaben zu den Stationen in Abb. 8.

Stationen	CFU/cm ³	Vk
1	<100	#
2	<100	#
3	4206	151
4	*	#

* Keine Angabe

Vk nicht kalkulierbar

Wassersäule

Am 23.3.1995 wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den aus der Wassersäule entnommenen Proben gefunden (Tab. 57).

Tab. 57: Statistische Ergebnisse eines Kruskal-Wallis-Tests zur Bestimmung signifikanter Unterschiede der Bakterienkonzentrationen auf allen benutzten Medien der untersuchten Stationen.

Medium	U-Test	Wahrscheinlichkeit	Verdünnung
TCBS	0.000	1.000	1/10
TCBS	0.000	1.000	1/100
TSA	1.782	0.776	1/10
TSA	4.139	0.388	1/100
ZoBell	3.101	0.541	1/10
ZoBell	6.174	0.187	1/100
ENDO-C	0.000	1.000	1/10
ENDO-C	0.000	1.000	1/100

Daten für die Referenzstation liegen für diesen Beprobungstag nicht vor. Die Konzentrationen der Wassersäule zeigten eine geringere Variabilität im Vergleich zu den Sedimentstationen, in denen Unterschiede zwischen den Stationen 1-4, 1-3 und 2-3 (auf den Medien ZoBell oder ENDO-C) ermittelt wurden.

Nach der Anzahl der auf dem ZoBell-Medium gewachsenen Kolonien war die Station 4 am geringsten, Station 3 am stärksten belastet. Eine entsprechende Verteilung konnte für die auf dem TCBS-Medium gewachsenen Kolonien nicht gefunden werden.

11.4.1995
Sediment

Am 11.4.1995 wurden nur auf dem TSA-Medium signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den Stationen festgestellt (Tab. 58).

Tab. 58: Korrelationsanalyse (Kruskal-Wallis) der Bakterienkonzentrationen zwischen den verschiedenen Sedimentstationen am 11.4.1995. Signifikante Unterschiede sind besonders hervorgehoben.

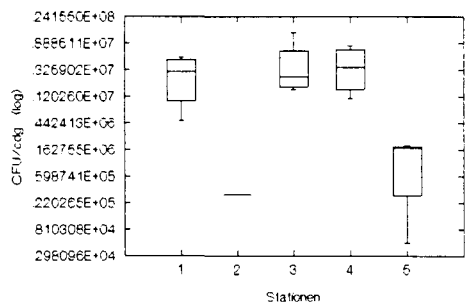
Medium	Verdünnung	Wahrscheinlichkeit
TCBS	1/100	0,179
TCBS	1/1000	0,522
TSA	1/100	0,142
TSA	1/1000	0,012
ZoBell	1/100	0,518
ZoBell	1/1000	0,294

Die Verteilung der auf dem TSA-Medium gewachsenen Bakterien wird in Abb. 99 gezeigt. Die Konzentrationen und Varianzkoeffizienten der verschiedenen Stationen sind in Tab. 59 dargestellt. Die Ergebnisse des Tukey-Tests zeigten signifikante Unterschiede zwischen den Stationen 1 und 2 ($P=0,015$), 1 und Referenz ($P=0,032$), 2 und 3 ($P=0,009$), 2 und 4 ($P=0,005$), 3 und Referenz ($P=0,018$) sowie 4 und Referenz ($P=0,010$).

Tab. 59. Konzentrationen (CFU/cm³) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Bakterien, die auf dem TSA-Medium am 11.4.1995 an allen untersuchten Sedimentstationen ermittelt wurden. Angaben zu den Stationen in Abb. 8.

Stationen	CFU/cm ³	Vk
1	3070000	70
2	10000	173
3	5050000	111
4	4395000	75
Referenz	93750	113

Abb. 99: Semilogarithmische Darstellung der Bakterienverteilungen, die auf TSA-Medium am 11.4.1995 an allen untersuchten Sedimentstationen ermittelt wurden. (Station 5 = Ref.). Angaben zu den Stationen in Abb. 8.



Wassersäule

Am 11.4.1995 wurden zwischen den Stationen keine signifikanten Konzentrationsunterschiede der Bakterien, die auf den verschiedenen Medien wuchsen, festgestellt (Tab. 60).

Tab. 60: Korrelationsanalyse (Kruskal-Wallis) für die Bakterienkonzentrationen, die in der Wassersäule auf den verschiedenen Nährböden am 11.4.95 bestimmt wurden.

Medium	Verdünnung	Statistische Faktor	Wahrscheinlichkeit
TCBS	1/1	5.882	0.208
TSA	1/10	3.167	0.367
TSA	1/100	4.396	0.494
ZoBell	1/100	4.928	0.425

Am 11.4.1995 wurde eine Referenzstation 500 m von den Käfigen entfernt in die Untersuchung miteinbezogen. Diese wies signifikant geringere Werte im Vergleich zu den Stationen 1, 3 und 4 im Bereich der Käfige auf. Eine Ausnahme stellte das TCBS-Medium dar. Darauf konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Am 20.4.1995
Sediment

Am 20.4.1995 wurden auf dem TCBS-Medium (Verdünnungen: 1:10 und 1:100) signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den verschiedenen Stationen (Tab. 61) festgestellt.

Tab. 61: Nichtparametrische Korrelationsanalyse (Kruskal-Wallis) der Bakterienkonzentrationen im Sediment auf den verschiedenen Nährböden am 20.4.1995. Signifikante Unterschiede sind besonders hervorgehoben.

Datum	Medium	Verdünnung	Statistische Faktor	Wahrscheinlichkeit
20.4.1995	TCBS	1/10	15,551	0,030
20.4.1995	TCBS	1/100	16,612	0,020
20.4.1995	TSA	1/1000	12,575	0,083
20.4.1995	TSA	1/10000	4,449	0,616
20.4.1995	ZoBell	1/1000	11,471	0,075
20.4.1995	ZoBell	1/10000	8,545	0,287
20.4.1995	ENDO-C	1/100	11,412	0,122

Die Verteilung der auf dem TCBS-Medium gewachsenen Bakterien (1:10) wird in Abb. 100 gezeigt, die Mittelwerte und Varianzkoeffizienten sind in Tab. 62 dargestellt. Anhand des Tukey-Tests konnte ermittelt werden, daß signifikante Unterschiede ($P < 0,001$) zwischen den Sedimentstationen 1 und 3, 1 und 4, 2 und 4, 3 und 4 sowie 4 und Referenz bestehen.

Tab. 62: Konzentrationen (CFU/cm³) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Bakterien, die auf dem TCBS-Medium am 11.4.1995 an allen untersuchten Sedimentstationen ermittelt wurden. Angaben zu den Stationen in Abb. 8.

Stationen	CFU/cm ³	Vk
1	937	95
2	4650	68
3	7950	23
4	16500	6
Referenz	5550	84

Abb. 100: Semilogarithmische Darstellung der Bakterienverteilung vom Sediment, die am 20.4.1995 auf dem TCBS-Medium (1/10) ermittelt wurden. Station 5 = Referenz. Angaben zu den Stationen in Abb. 8.

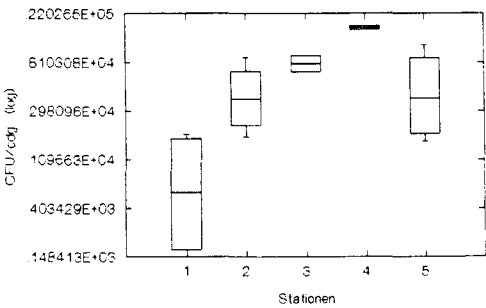


Abb. 101 stellt die Verteilung der Bakterien, die auf TCBS-Medium (1:100) wuchsen, dar. Mittels eines Tukey-Tests konnte nachgewiesen werden, daß signifikante Unterschiede ($P < 0,05$) zwischen den Sedimentstationen 1 und 2, 1 und 3, 1 und 4, 2 und 3, 2 und 4, 3 und 4 sowie 4 und Referenz bestanden.

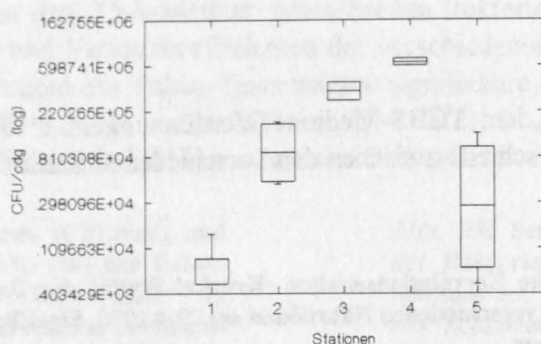


Abb. 101: Semilogarithmische Darstellung der Verteilung der Sedimentbakterien, die auf dem TCBS-Medium (1/100) am 20.4.1995 ermittelt wurden. (Station 5 = Ref.). Angaben zu den Stationen in Abb. 8.

Am 20.4.1995 wurden nur Sedimentuntersuchungen durchgeführt, durch welche signifikante Unterschiede zwischen den Stationen ermittelt werden konnten. Die in beiden Verdünnungen festgestellten Unterschiede zeigten ihre höchsten Werte an Station 4 und ihre niedrigsten an Station 1 und der Referenzstation.

Die häufigsten Bakterienarten, die auf den Medien TSA und TCBS wuchsen, sind in Tab. 63 nach ihrer relativen Abundanz an den verschiedenen Stationen und Tiefen des Sediments dargestellt.

Tab. 63: Relative Abundanz (%) der häufigsten Sedimentbakterienarten (CFU/cm³), die auf den Medien TCBS und TSA am 20.3.1995 an den Stationen 1, 2, 3 und 4 und Referenz in der Ilque-Bucht ermittelt wurden. A= *Pseudomonas* sp.; B= *Vibrio alginolyticus*; C= *Bordetella* / *Alcaligenes* sp.; D= *Vibrio tubiashii*; E= *Vibrio alginolyticus*; G= *Vibrio* sp. und H= Andere. Angaben zu den Stationen in Abb. 8.

Stationen / Arten	1	2	2 2.cm	3	3 2. cm	4	4 - 2.cm	Referenz
A	24	42	9	7	8	50	4	39
B	18	17	4	24	8	12	33	7
C	10	6	5	2	0	0	5	4
D	5	2	8	3	12	10	6	5
F	0	0	0	0	0	0	0	0
G	43	32	73	64	71	36	51	45

Zwischen den Stationen 1, 2, 3 und 4 wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt, wobei Bakterien der Arten *Vibrio anguillarum* und *V. alginolyticus* am häufigsten aus dem ersten Zentimeter isoliert wurden. Die Arten *Bordetella* und *Vibrio tubiashii* nahmen im zweiten Zentimeter an Präsenz zu.

4.2.3.4 Untersuchungen im Vertikalprofil

Es wurde die Vertikalverteilung der Bakterien im Sediment unter den Käfigen untersucht. Dabei sollte festgestellt werden, inwieweit kleinräumige Schwankungen auftraten. Die Ergebnisse sind den einzelnen Nährböden entsprechend getrennt aufgeführt.

ZoBell

Die Abundanzen der saprophytischen Bakterien, die auf dem ZoBell-Medium festgestellt wurden, zeigten an den Stationen 1, 3 und 4 Bakterienkonzentrationen, die an der Oberfläche um 1-2 Zehnerpotenzen höher waren als in dem zweiten Sedimentzentimeter. Im Gegensatz dazu ist an Station 2 die Konzentration im zweiten Sedimentzentimeter höher als im ersten Sedimentzentimeter (Tab. 64 und Abb. 102).

Die Referenzstation wies im Vergleich zu den Stationen 2, 3 und 4 höhere Konzentrationen auf. Nur Station 1 zeigte höhere Bakterienkonzentrationen. Die Bakterienabundanzen wurden am ersten Tag nach Beendigung einer Therapeutikabehandlung ermittelt, so daß die Konzentrationen der Stationen 1, 3 und 4 den Einfluß der Therapeutika zeigen können. Die unterschiedlichen Konzentrationen der Stationen spiegeln die Unterschiede der Sedimentation unter den Käfigen wider.

Tab. 64. Konzentrationen (CFU/cm³) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der auf dem ZoBell-Medium gewachsenen Bakterien in den ersten zwei Zentimetern am 20.4.1995. Angaben zu den Stationen in Abb. 8.

Stationen	CFU/cm ³	Vk
1 - 1. cm	21258750	200
1 - 2. cm	553333	126
2 - 1. cm	155000	90
2 - 2. cm	928750	188
3 - 1. cm	820000	89
3 - 2. cm	66666	90
4 - 1. cm	1718750	90
4 - 2. cm	58750	69
Referenz	2250000	135

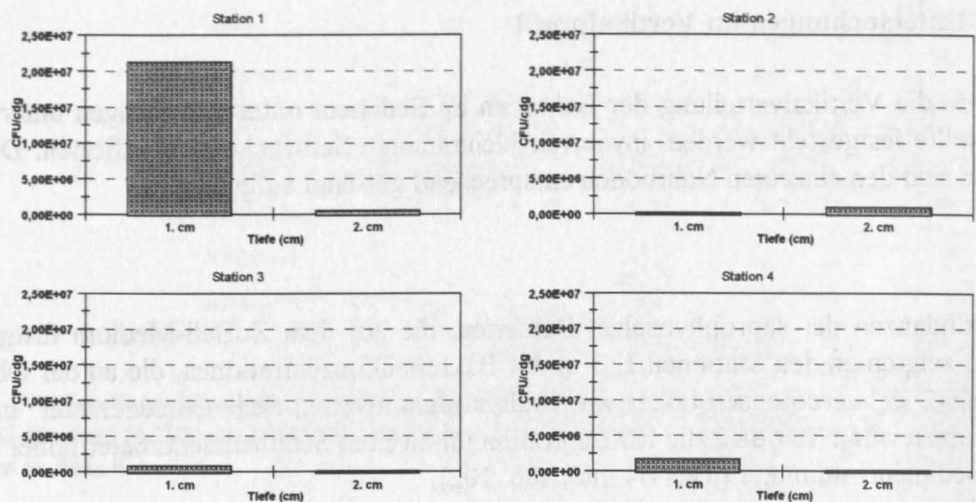


Abb. 102: Semilogarithmische Darstellung der Konzentrationen (CFU/cm³) der auf dem Zo-Bell-Medium gewachsenen Bakterien in den ersten zwei Zentimetern am 20.4.1995. Angaben zu den Stationen in Abb. 8.

TSA

Die auf dem TSA-Medium gewachsenen Bakterien (CFU/cm³) an den Stationen 1, 2 und 4 zeigten Konzentrationen, die an der Sedimentoberfläche um 1 bis 2 Zehnerpotenzen höher waren als in dem zweiten Sedimentzentimeter (Tab. 65). Nur an Station 3 wurde in dem zweiten Sedimentzentimeter des eine höhere Konzentration (um eine Zehnerpotenz) beobachtet (Abb. 103). Die Referenzstation hatte durchschnittliche Konzentrationen von 3.4×10^3 CFU/cm³, welche deutlich unter den Konzentrationen im Bereich der Käfige lagen. Station 1 erwies sich als die mit den höheren Konzentrationen an der Oberfläche.

Tab. 65. Konzentrationen (CFU/cm³) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der auf dem TSA-Medium gewachsenen Bakterien in den ersten zwei Zentimetern am 20.4.1995. Angaben zu den Stationen in Abb. 8.

Stationen	CFU/cm ³	Vk
1 - 1. cm	975000	190
1 - 2. cm	107500	152
2 - 1. cm	111875	136
2 - 2. cm	88300	164
3 - 1. cm	368750	100
3 - 2. cm	2617500	194
4 - 1. cm	182500	144
4 - 2. cm	6375	116
Referenz	34063	174

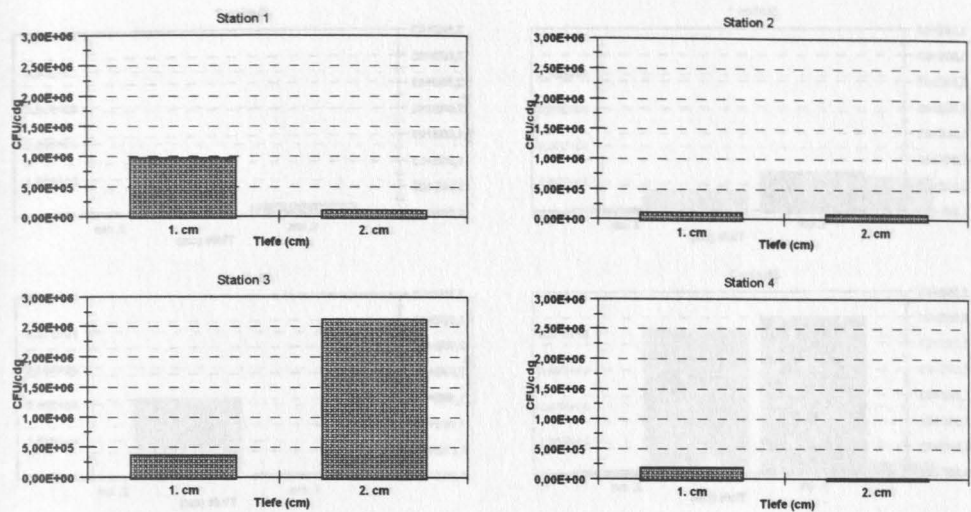


Abb. 103: Semilogarithmische Darstellung der Konzentrationen (CFU/cm³) der auf dem TSA-Medium gewachsenen Bakterien in den ersten zwei Zentimetern am 20.4.1995. Angaben zu den Stationen in Abb. 8.

Enterobacteriaceae

Die Sedimentbakterien, die auf dem ENDO-C-Medium wuchsen, erreichten ihre höchste Konzentration bei 3×10^3 CFU/cm³ unter den Käfigen. Dies beweist die sehr geringen Fäkalteinträge im Bereich der Anlage der Ilque-Bucht. Die höchsten Konzentrationen wurden mit Ausnahme von Station 4 an allen Stationen an der Oberfläche ermittelt, sie unterschieden sich lediglich um 1 bis 3 Zehnerpotenzen (Tab. 66, Abb. 104).

Tab. 66. Konzentrationen (CFU/cm³) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der auf dem ENDO-C-Medium gewachsenen Bakterien in den ersten zwei Zentimetern am 20.4.1995. Angaben zu den Stationen in Abb. 8.

Stationen	CFU/cm ³	Vk
1 -1. cm	750	47
1 -2. cm	49	141
2 -1. cm	177	206
2 -2. cm	49	141
3 -1. cm	3000	118
3 -2. cm	49	141
4 -1. cm	49	141
4 -2. cm	49	141
Referenz	49	141

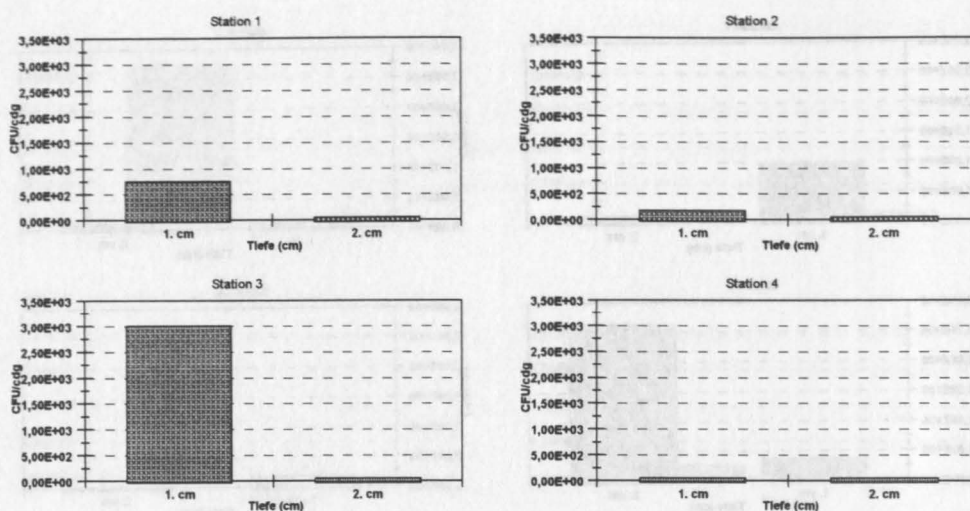


Abb. 104: Semilogarithmische Darstellung der Konzentrationen (CFU/cm^3) der auf dem ENDO-C-Medium gewachsenen Bakterien in den ersten zwei Zentimetern am 20.4.1995. Angaben zu den Stationen in Abb. 8.

TCBS

In Tab. 67 sind die mittleren Konzentrationen und Varianzkoeffizienten der Sedimentbakterien, die auf dem TCBS-Medium ermittelt wurden, dargestellt. In Tab. 63 sind die Verteilungen dieser Bakterien in dem ersten und zweiten Zentimeter prozentual dargestellt. Abb. 105 zeigt, daß an den Stationen 1, 3 und 4 die *Vibrio* Konzentrationen im ersten Zentimeter um 1 bis 2 Zehnerpotenzen höher waren als im zweiten Zentimeter. Station 3 zeigt demgegenüber aber eine höhere Konzentration in dem zweiten Zentimeter. Die Bakterienkonzentrationen an der Referenzstation zeigen nicht signifikante Unterschiede im Vergleich zu den Stationen unter den Käfigen.

Tab. 67. Konzentrationen (CFU/cm^3) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der auf dem TCBS-Medium gewachsenen Bakterien in den ersten zwei Zentimetern am 20.4.1995. Angaben zu den Stationen in Abb. 8.

Stationen	CFU/cm^3	Vk
1 - 1. cm	587	107
1 - 2. cm	987	86
2 - 1. cm	7700	78
2 - 2. cm	11538	74
3 - 1. cm	21475	78
3 - 2. cm	525	74
4 - 1. cm	40625	69
4 - 2. cm	4000	61
Referenz	5587	90

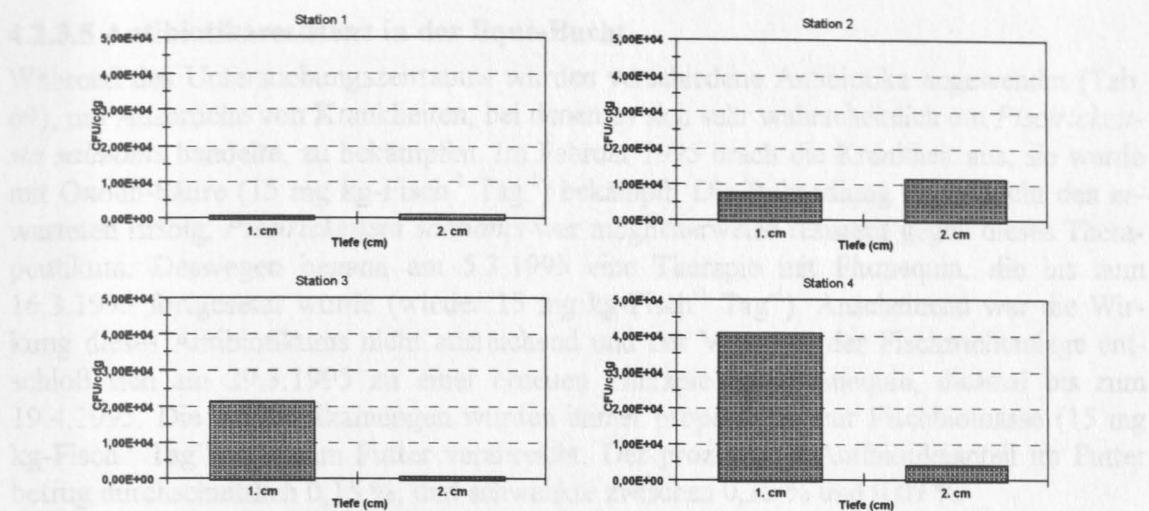


Abb. 105: Semilogarithmische Darstellung der Konzentrationen (CFU/cm³) der auf dem TCBS-Medium gewachsenen Bakterien in den ersten zwei Zentimetern am 20.4.1995. Angaben zu den Stationen in Abb. 8.

Am 21.4.1995 wurden zusätzliche Untersuchungen auf dem TCBS-Medium durchgeführt, um die kleinräumige Verteilung in der Konzentration dieser Sedimentbakterien zwischen den Stationen festzustellen. Diese Stationen lagen im Sedimentationsfeld der Käfige, die Konzentrationen neigten zu einem Wachstum mit zunehmender Distanz zu den Käfigen. Diese Unterschiede waren jedoch nicht signifikant.

Tab. 68. Mittelwerte (CFU/cm³) und Varianzkoeffizienten -Vk- (%) der Sedimentbakterien, die auf dem TCBS-Medium an den Stationen 3, sowie in 8 m und 18 m Entfernung am 21.4.1995 ermittelt wurden. Angaben zu den Stationen in Abb. 8.

* Keine Proben						
Tiefe	Station 3	Vk	8 m vom der Station 3	Vk	18 m von der Station 3	Vk
1. cm	14700	92	18727	106	452163	210
2. cm	12767	63	49543	224	*	
3. cm	53250	167	59436	220	*	
4. cm	21583	117	379829	199	*	
5. cm	41248	67	*		*	

4.2.3.5 Antibiotikaresistenz in der Ilque-Bucht

Während des Untersuchungszeitraums wurden verschiedene Antibiotika angewendet (Tab. 69), um Ausbrüche von Krankheiten, bei denen es sich sehr wahrscheinlich um *Piscirickettsia salmonis* handelte, zu bekämpfen. Im Februar 1995 brach die Krankheit aus, sie wurde mit Oxolin-Säure (15 mg kg-Fisch⁻¹ Tag⁻¹) bekämpft. Die Behandlung zeigte nicht den erwarteten Erfolg, *Piscirickettsia salmonis* war möglicherweise resistent gegen dieses Therapeutikum. Deswegen begann am 5.3.1995 eine Therapie mit Flumequin, die bis zum 16.3.1995 fortgesetzt wurde (wieder 15 mg kg-Fisch⁻¹ Tag⁻¹). Anscheinend war die Wirkung dieses Antibiotikums nicht ausreichend und der Veterinär der Fischzuchtanlage entschloß sich am 29.3.1995 zu einer erneuten Therapie mit Flumequin, diesmal bis zum 19.4.1995. Die Antibiotikamengen wurden immer proportional zur Fischbiomasse (15 mg kg-Fisch⁻¹ Tag⁻¹) mit dem Futter verabreicht. Der prozentuale Antibiotikaanteil im Futter betrug durchschnittlich 0,15 %, und schwankte zwischen 0,35 % und 0,09 %. Die Anwendung sowie die angebotene Futtermenge in Prozent der Fischbiomasse sind in Abb. 106 dargestellt. Im April wurde eine erhebliche Mortalität der Fische, ausgelöst allerdings durch eine *Chaetoceros convolutus*-Blüte, nachgewiesen. Im Mai wurde kein weiterer Ausbruch beobachtet, daher wurden auch keine weiteren Therapeutika angewendet. Die o.g. Ausbrüche verursachten eine erhebliche Mortalität (s. 4.2.1) (Wrege, pers. Mitteilung).

Tab. 69: Angewendete Mengen an Therapeutika in der untersuchten Anlage der Ilque-Bucht während des Untersuchungszeitraums. OA = Oxolin-Säure, FL = Flumequin. * modellierte Biomasse

	Biomasse (kg)	Antibiotika (kg)
November	12500	0-
Februar	35123	7,01 OA
März	36202	7,54 FL
April	35982 *	8,10 FL
Mai	37169 *	0,00

Hauptaugenmerk galt hier der Untersuchung der Sedimente. Daher wurde im Sediment die Resistenz gegenüber Oxytetracycline (OT 30 µg), Furazolidone (FR 50 µg und FR 100 µg), Ampicillin (AMP 10 µg) und Furazolidone (FR 50 µg und 100 µg) gemessen.

In Abb. 107 sind die am häufigsten gefundenen Bakterienarten und ihre durchschnittliche Resistenz (cm Hemmung) vom Sediment des Käfigbereichs in der Ilque-Bucht dargestellt. Die beobachtete Sensitivität gegenüber den untersuchten Antibiotika zeigte keinen signifikanten Unterschied (P=0,759) zwischen den verschiedenen Arten. Trotzdem konnte ermittelt werden, daß die Sedimentbakterien, mit Ausnahme von *V. tubiashii*, generell am sensibelsten gegen das Antibiotikum FR (100 µg) sind. Die stärkste Resistenz wurde gegenüber FR (50 µg) gemessen. Die Sensitivität auf alle anderen Antibiotika lag in einem mittleren Bereich ohne bedeutende Unterschiede.

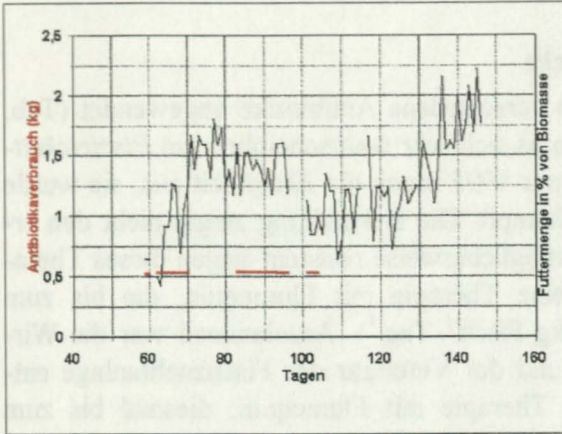


Abb. 106: Antibiotikaverbrauch (kg) und angebotene Futtermenge in Abhängigkeit von der Fischbiomasse (%) in dem Zeitraum der Untersuchung (vom 59. bis 146. Zuchttag).

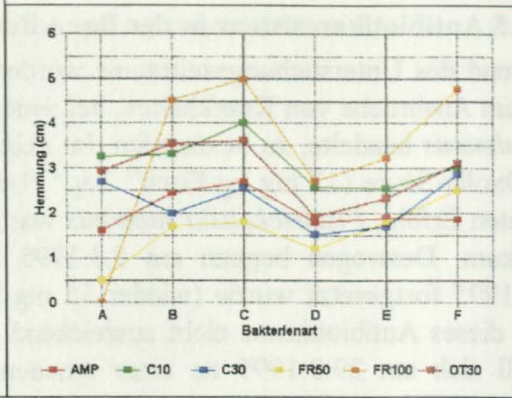


Abb. 107: Durchschnittliche Sensitivität gegen Antibiotika verschiedener Arten von Sedimentbakterien im Bereich der Aquakulturanlage der Ilque-Bucht. *Vibrio tubiashii* = A; *V. alginolyticus* = B; *Bordetella/Paucimobilis* sp. = C; *Pseudomonas* sp. = D; *P. paucimobilis* = E und andere = F.

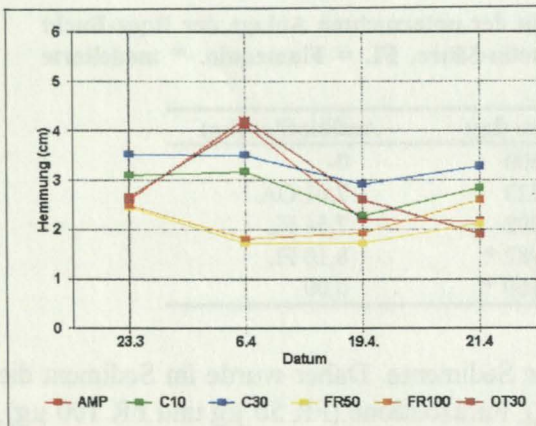


Abb. 108: Durchschnittliche Sensitivität gegen Antibiotika von Sedimentbakterien an verschiedenen Probenentnahmetagen 1995 im Bereich der Aquakulturanlage der Ilque-Bucht.

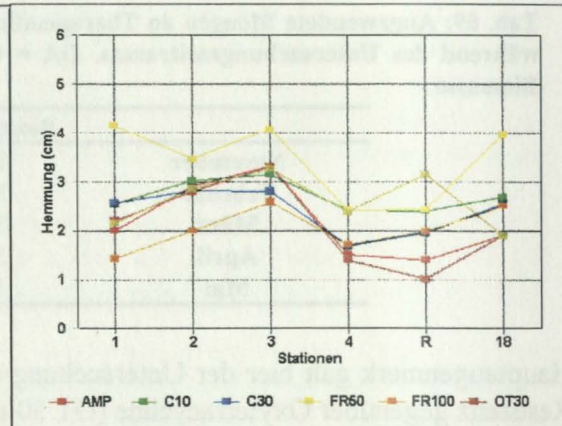


Abb. 109: Durchschnittliche Sensitivität gegen Antibiotika von Sedimentbakterien an den verschiedenen Stationen (s. Abb. 8) im Bereich der Aquakulturanlage der Ilque-Bucht.

Obwohl in der Zwischenzeit Antibiotika verwendet wurden, zeigte die zeitliche Entwicklung der Sensitivität auf die Antibiotika (Abb. 108) ebenfalls keinen signifikanten Unterschied zwischen den verschiedenen Tagen ($P=0,772$). Möglicherweise sorgten hohe Strömungsgeschwindigkeiten für einen schnellen Abtransport dieser Substanzen und verhinderten somit eine meßbare Resistenzbildung. Am 6.4.1995, als eine höhere Sensitivität ermittelt wurde, waren die einzigen etwas abweichenden Resistenzen die gegenüber OT (30 μg) und AMP (10 μg). Während des gesamten übrigen Zeitraums wurde eine höhere Resistenz gegenüber FR (50 und 100 μg) ermittelt. Auf das Antibiotikum C (10 und 30 μg) reagierten die Bakterien mit der höchsten Sensitivität.

Die Betrachtung der Resistenzentwicklung im Bereich der Käfige zeigte, daß keine signifikanten Unterschiede zwischen den Stationen vorkamen ($P=0,653$). Es wurden aber die Stationen 2, 3 und 18 m von Station 3 entfernt als die mit den sensibelsten Bakteriengemeinschaften gegenüber den untersuchten Antibiotika ermittelt (Abb. 109). Besonders wirksam war FR (50 μg), wobei gegenüber FR (100 μg) eine Resistenz angezeigt wurde. Die Stationen mit den höchsten entwickelten Resistenzen, besonders gegenüber AMP (10 μg) und OT(30 μg), waren Station 4 und die Referenzstation.

Die Gemeinschaften aus der Wassersäule zeigten gegenüber allen untersuchten Antibiotika eine signifikant ($P<0.05$) höhere Resistenz als die Sedimentgemeinschaften (Abb. 110). Auf die Antibiotika OT (30 μg) und C (30 μg) reagierten die Bakterien mit der höchsten Sensitivität. Das Antibiotikum FR (50 und 100 μg) wies die höchsten Resistenzen auf. Die Resistenzentwicklung der Gemeinschaften der Wassersäule ist unerwartet hoch, da im Sediment aktive Resistenzübertragungsprozesse vorkommen (Husevåg *et al.* 1991). Der aktive Wasseraustausch der Ilque-Bucht sollte dagegen für unbeeinflusste Wassermassen, die theoretisch Bakterien ohne Antibiotikaresistenz mit sich führen sorgen.

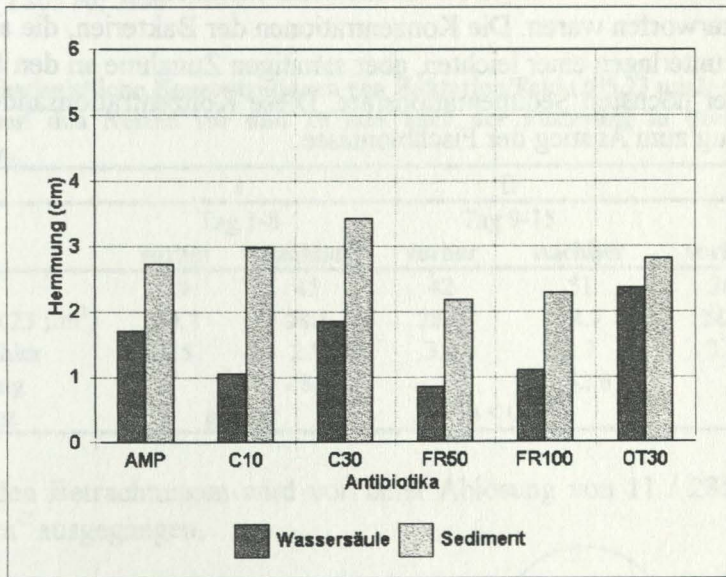


Abb. 110: Resistenzentwicklung aller isolierten Bakterienstämme aus der Wassersäule und dem Sediment der Ilque-Bucht.

Die ermittelten Hemmungshöfe in Ilque und Wismar zeigten für die Sedimentgemeinschaften ähnliche Werte. Dies ist bemerkenswert wegen der bedeutenden Antibiotikazugabe in der Ilque-Bucht.

Andererseits ermittelten die Gemeinschaften der Wassersäule Resistenzunterschiede, wobei durchschnittlich in der Ilque-Bucht höhere Resistenzentwicklungen ermittelt wurden.

Zusammenfassung der Untersuchungen aus der Ilque Bucht

Die Untersuchungen in der Ilque-Bucht zeigten, daß sich die Anlage durch eine deutlich höhere Produktion als der in der Wismarer Bucht auszeichnete. Das Management in Ilque ist darauf ausgerichtet, eine relativ hohe Biomasse in einem sehr intensiven System zu halten. Daher wurden häufig Therapeutika angewendet. In der chilenischen Veterinärmedizin wurde die Tendenz beobachtet, mehr Schadensbekämpfung als Ursachenforschung zu betreiben, dieses Problem ist in der Salmonidenkultur in der Ilque-Bucht weit verbreitet. Weiterhin ist die Verwendung der Futtermittel, deren Qualität unter dem europäischen Standard liegt, als nicht optimal für den Umweltzustand anzusehen.

Durch die physikochemischen Parameter konnte ein sehr guter Umweltzustand ermittelt werden. Die starke Strömung sorgte für einen ausreichenden Wasseraustausch, welcher sich im optimalen Bereich der Salmonidenzucht befand. Die Sedimentation unter den Käfigen war nur leicht ausgeprägt und begrenzte sich auf den Bereich direkt unter den Käfigen.

Die auf den Medien ZoBell und TSA gewachsenen Kolonien zeigten Konzentrationsänderungen, die möglicherweise durch die Sedimentation bedingt waren. Diese waren aber sehr variabel und wurden vermutlich durch die Antibiotikazugabe beeinflusst. Auf dem ENDO-C-Medium zeigten sich nur sehr niedrige bakterielle Konzentrationen, die keinen Konzentrationsänderungen unterworfen waren. Die Konzentrationen der Bakterien, die auf dem TCBS-Medium wuchsen, unterlagen einer leichten, aber ständigen Zunahme an den Stationen unter den Käfigen mit der höchsten Sedimentationsrate. Diese Konzentrationsänderungen hatten einen direkten Bezug zum Anstieg der Fischbiomasse.

4.3 Untersuchung zum Eintrag von Bakterien in die Wassersäule durch Ablösung von Netzmaterialien

Bei den Untersuchungen in der Wismarer Bucht wurde während der Fütterung eine Steigerung der Konzentration einzelner Bakteriengruppen in der Wassersäule beobachtet. Zur Erklärung dieser Konzentrationssteigerungen nach der Fütterung (s. 4.1.3.4) wurden Untersuchungen in der Kieler Förde durchgeführt. Die Fragestellung war dabei, ob sich die an den Netzen angehefteten Bakterien durch mechanische Beeinflussung während oder kurz vor der Fütterung abgelöst haben.

Um diese Frage zu beantworten, werden folgende Daten benötigt:

- 1) Die Differenz der Bakterien auf dem Netz vor und nach der Fütterung pro μm^3 .
- 2) Die gesamte Oberfläche des Netzes.
- 3) Die durch Konzentrationsmessung bestimmte Anzahl der freigesetzten Bakterien.

Zu 1):

Wie bereits in Kapitel 3.3 erläutert wurde, ist eine Zählung der Ablösung nur in Intervall II aussagekräftig (Tab. 70, Abb. 112).

Tab. 70: Durchschnittliche Konzentrationen von Bakterien/Feld ($285,23 \mu\text{m}^2$) und prozentuale Änderungen auf den Netzen vor und 10 min nach der Fütterung in drei verschiedenen Zeitintervallen.

Intervall	I		II		III	
	Tag 1-8		Tag 9-15		Tag 16-18	
	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher
n	39	45	42	51	36	42
Mittelwert ($n/285,23 \mu\text{m}^2$)	30.7	28.1	25.7	14.7	24.8	21.3
Standard Fehler	4.5	2.9	3.6	1.7	3.3	2.4
% Änderung		- 8.5		- 42.8		- 14.1
Signifikanz	p>0.05		p < 0.05		p>0.05	

Für die folgenden Betrachtungen wird von einer Ablösung von $11 / 285.23 \mu\text{m}^2 = 0,039 \mu\text{m}^2 = 3,9 \cdot 10^{10} \text{ m}^{-2}$ ausgegangen.

Zu 2):

Zur Berechnung der Oberfläche des Netzes wurden folgende Überlegungen angestellt: Die Schnur ist aus drei Teilschnüren hergestellt (Abb. 111), die wiederum aus einem sehr feinen Garn verzwirrt sind.

Der effektive Umfang der Netzschnur U_{eff} wurde aus dem Radius einer Teilschnur (0,5 mm) und dem

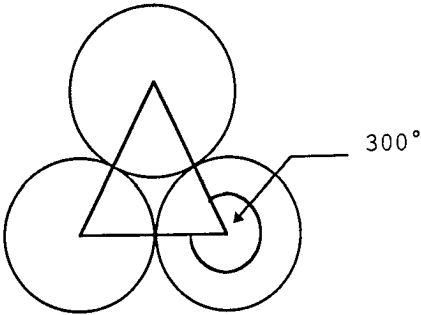


Abb. 111: Querschnitt der Schnur, aus der das Netz geknüpft ist. Der sichtbaren Teil beträgt 300° pro Teilschnur.

sichtbaren Teil der drei Teilschnüre (jeweils 300°) wie folgt berechnet: Umfang der drei Teilschnüre (erste Klammer) geteilt durch den Durchmesser des Garns (zweite Klammer), multipliziert mit dem halben Umfang des Garns (dritte Klammer):

$$U_{\text{eff}} = \{300/360 \cdot 3 \cdot 2 \cdot \pi \cdot r_T\} / \{2 \cdot r_G\} \cdot \{2 \cdot \pi \cdot r_G/2\} = 5/2 \cdot \pi \cdot r_T \cdot \pi$$

$$U_{\text{eff}} \approx 0,012 \text{ m}$$

Pro Masche werden ca. 7 cm Schnur benötigt, und pro Quadratmeter Netz ca. 3600 Maschen. Das entspricht einer Oberfläche von $0,012 \text{ m} \cdot 0,07 \text{ m} \cdot 3600 = 3 \text{ m}^2$ Oberfläche pro Quadratmeter Netz.

Die Käfige haben ungefähr die Form einer Halbkugel mit einem Radius von 3 m. Das entspricht einer Netzfläche von $4 \cdot \pi \cdot R^2/2 = 57 \text{ m}^2$. Das heißt, daß die Oberfläche eines Netzes $57 \text{ m}^2 \cdot 3 \text{ m}^2/\text{m}^2 = 171 \text{ m}^2$ beträgt.

Zu 3):

Die im Wasser gemessene Differenz der Bakterienkonzentration vor und nach der Fütterung beträgt ca. 30000 ml^{-3} oder $3,0 \cdot 10^{10} \text{ m}^{-3}$. Nimmt man eine homogene Verteilung der Bakterienkonzentration in einer Halbkugel mit dem 1,5 fachen Radius des Netzes an, so verteilen sich die Bakterien auf ein Volumen von $4/3 \cdot \pi \cdot (R)^3 / 2 \approx 382 \text{ m}^3$. Das entspricht $382 \text{ m}^3 \cdot 3,0 \cdot 10^{10} \text{ m}^{-3} = 1,1 \cdot 10^{13}$ Bakterien pro Netz.

Fast man die Ergebnisse aus 1), 2) und 3) zusammen, ergibt sich eine Ablösung von $3,9 \cdot 10^{10} \text{ m}^{-2} \cdot 171 \text{ m}^2 = 6,6 \cdot 10^{12}$ Bakterien pro Netz und Fütterung. Diese Zahl ist in der gleichen Größenordnung wie die Zahl der im Wasser gefundenen Bakterien anzusiedeln.

Es muß jedoch berücksichtigt werden, daß es sich bei der Berechnung um eine sehr grobe Schätzung handelt. Die Verteilung der Bakterien in der Umgebung kann nicht als homogen angenommen werden. Aus Mangel an Meßpunkten mußte hier jedoch diese Vereinfachung vorgenommen werden.

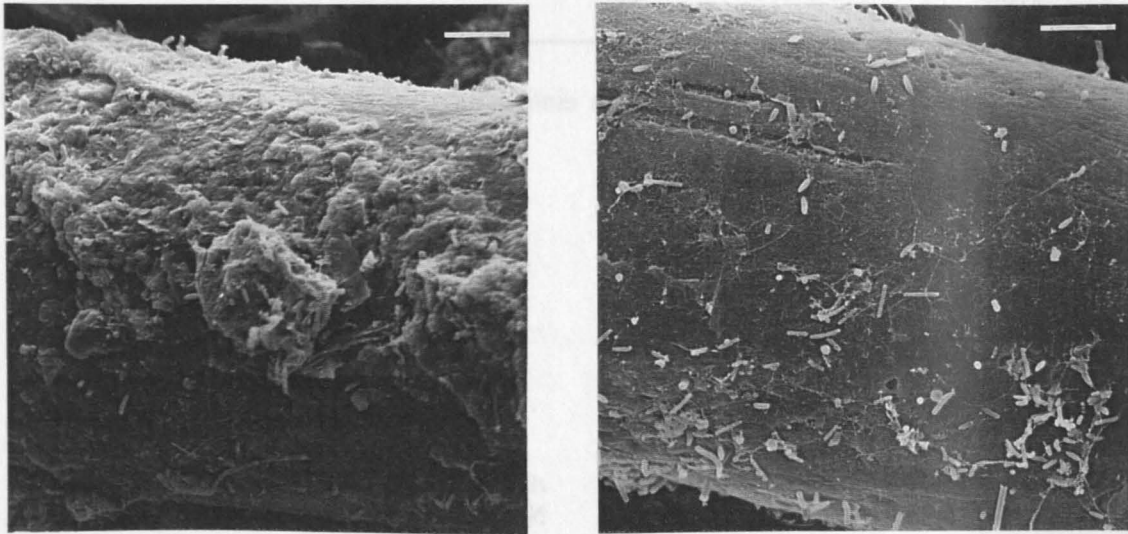


Abb. 112: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zweier Netzstücke vor (links) und 10 min nach (rechts) der Fütterung (Balken = $5 \mu\text{m}$).

5. Diskussion

Allgemeiner Hintergrund

Die durchgeführten Untersuchungen dienten der Vertiefung der Kenntnisse über Interaktionen der Aquakultur mit Bakterienpopulationen in küstennahen Gebieten. Nicht nur allein die pathologischen Aspekte der intensiven Aquakultur sollten beleuchtet werden, sondern vielmehr die ökologischen Beziehungen innerhalb der Mikroflora. Da die Regenbogenforelle mit unterschiedlichen Techniken und an unterschiedlichen Standorten weltweit intensiv kultiviert wird, stellt sie eine geeignete Fischart für die Beprobung und Identifizierung möglicher bakteriologischer Indikatoren dar.

Untersuchungen von u.a. Austin (1982, 1983, 1985), Austin & Austin (1985), Niemi (1985), Carr & Goulder (1990), Brown (1991) sowie eigene unveröffentlichte Forschungsergebnisse erbrachten eindeutige Beweise über das Anwachsen der Gesamtbakterienzahl nach dem Wasserdurchlauf in intensiven Aquakulturanlagen. Die Möglichkeit, dieses bakterielle Wachstum als einen Bioindikator zur Bewertung des Umweltzustandes zu nutzen, ist in der Aquakultur noch wenig untersucht worden. Dabei ist bekannt, daß spezielle bakterielle Populationen im Einflußbereich von Käfiganlagen eindeutig begünstigt werden (Prieur 1985; Spanggard *et al.* 1993).

Charakterisierung des Anlagenzustandes

Die untersuchten Anlagen stellten zwei Extreme in der Aquakultur dar. Beide Anlagen unterschieden sich in der Produktionsgröße, im Trophiegrad des Standortes und auch im Management.

Die Charakterisierung der Aquakultureinflüsse, die mittels standardisierter, chemischer und physikalischer Monitoringparameter durchgeführt wurde, gewährleistete eine eindeutige Identifizierung des Umweltzustandes im Bereich der untersuchten Anlagen.

Der Schwerpunkt aber lag auf der Untersuchung der bakteriologischen Parameter. Um die isolierten Keime qualitativ und quantitativ zu bestimmen, fanden in der Untersuchung zwei selektive (ENDO-C und TCBS) und zwei universell geeignete Nährböden (ZoBell und TSA) Anwendung.

Mit Hilfe dieser Daten konnten die Beziehungen zwischen den physikochemischen und den bakteriologischen Parametern überprüft und bewertet werden, wobei besondere Aufmerksamkeit dem Produktionsmanagement und dem Umweltzustand galt.

5.1 Das Produktionsmanagement

In der Wismarer Bucht wurde 1994 im Vergleich zur Produktion von vor 8 Jahren eine erhebliche Qualitätsverbesserung der Produktion erreicht, so daß die heute dort gezüchtete Biomasse eher der Tragfähigkeit dieser Bucht entspricht. Benachteiligt wurde die Produktion durch die starke Eutrophierung, die den bakteriellen „threshold value“ negativ beeinflusste und durch die geringe Tiefe, die die Abpufferung von kurzfristigen Umweltveränderungen nicht gewährleisten konnte. Beide Variablen stellen somit einen hohen Risikofaktor in einer erfolgreichen Fischproduktion dar.

In der Ilque-Bucht ermöglichten die günstigen natürlichen Bedingungen eine hohe Tragfähigkeit der Bucht, deren Auslastung durch die Fischzucht noch nicht erreicht wurde. Es wurde jedoch festgestellt, daß trotz starker Wasserdynamik die „recovery time“ nicht unter einem Jahr lag. Dieser Umstand könnte bei Beibehaltung der derzeitigen Produktionsmenge in Zukunft zu einer Knappheit an Flotillen-Standorten in dieser Bucht führen.

Trotz der guten Infrastruktur und der sanitären Maßnahmen war es nicht möglich, Krankheiten gänzlich vorzubeugen. Mögliche Gründe dafür könnten sein:

1. In der Bucht standen verschiedene Altersklassen auf zu engem Raum beisammen.
2. Ohne die vorherige Erstellung von Antibiotogrammen erfolgten therapeutische Maßnahmen (Antibiotika) gegen Krankheiten, was zu unnötigem Fischstreß durch Behandlungen mit falschen Therapeutika, zu unnötigem Einkauf von Medikamenten und außerdem zu einer unnötigen Belastung der Fauna und somit der anderen Käfige sowie des Sediments führte.
3. Es wurden giftige, auf Schwermetallen basierende Antifoulings eingesetzt.
4. Gegen einen Ektoparasit erfolgten medikamentöse Behandlungen, die möglicherweise negative Auswirkungen auf Fisch und Umwelt haben (Saunders 1995; Sievers *et al.* 1995).
5. Die an Land durchgeführten Netzreinigungsprozesse setzten in der Wassersäule Schwebstoffe frei, die von den Gezeiten abhängig in Richtung der Käfige gelangen konnten und als eine potentielle Gefahr für die Fischzucht gewertet werden können.

Aus rein wissenschaftlicher Sicht, welche die optimale Ausnutzung der Ressourcen verfolgt, ist das Management in der Wismarer Bucht dem der Ilque-Bucht vorzuziehen. Gründe hierfür sind (1) die Ausnutzung der optimalen Fütterungszeiten morgens bei Sonnenaufgang (Boujard *et al.* 1995), (2) die Verwendung von „high energy“-Futter, welches zudem (3) einen Gesamtposphorgehalt von nur 0,9 % hat. Von großer Bedeutung ist weiterhin, daß (4) die Verwendung von Antibiotika in der deutschen Fischkultur für Speisefische stark reglementiert und kontrolliert wird (Schlotfeldt 1996).

Dagegen wurde in Ilque (1) trotz der Verwendung von Fütterungstabellen mehrmals am Tag gefüttert. (2) Die in Chile gebräuchlichen Futtermittel weisen einen Gesamtposphorgehalt von ca. 1,5-1,8 % und (3) einen geringeren Lipidgehalt auf. (4) Die Anwendung von Antibiotika wird in Chile unzureichend reglementiert.

5.2. Physikochemische Charakterisierung, Benthos

In der Praxis brachte die Charakterisierung beider Buchten anhand physikochemischer Parameter wichtige Erkenntnisse über den trophischen Zustand der Standorte. Sie gab wenig Auskunft über die Qualität des Managements der Zucht, die aber den eigentlichen Kernpunkt einer umweltgerechten und effizienten Produktion ausmacht. („Environmentally Sustainable Production“-Prinzip). Darin besteht häufig der Nachteil von Gewässergüteberichten, die nur auf Messungen physikochemischer Variablen beruhen (Troell 1996).

In Bezug auf den Betrieb einer Forellenanlage ergaben die physikochemischen Parameter für die Wismarer Bucht ungünstige und für die Ilque Bucht günstige Bedingungen. Gründe dafür sind:

1. In der Wismarer Bucht stellt die Wassertiefe ein besonderes Kriterium für das optimale Management des Betriebes dar. Die physikochemischen Faktoren können sich schnell

und drastisch ändern, da aufgrund der geringen Tiefe das Wasservolumen zu gering ist, um als „Puffer“ gegen kurzfristige Schwankungen von wichtigen Umweltvariablen zu fungieren (Rosenthal & Munro 1985).

In Gegensatz dazu zeichnet sich die Wassertiefe der Ilque-Bucht als optimal für einen genügenden Wasseraustausch und günstig für eine ausreichende Verteilung der sedimentierenden Reste aus.

2. Die erheblichen Schwankungen der Wassertemperatur in der Wismarer Bucht führten zu einer enormen Variabilität dieses Systems. Das rasche Wachstum von u.a. Makrophyten wurde durch die hohen Temperaturen und die Sonneneinstrahlung im Sommer gefördert. Da die zulässige Temperaturobergrenze für Salmoniden für einen langen Zeitraum überschritten wurde und die Wassertemperatur sich zeitweise sogar im letalen Bereich bewegte (Rosenthal & Munro 1985), kann dies als eine der Ursachen für die hohe Mortalitätsrate im Juli angesehen werden (Eddy 1981).

In Ilque wurde eine leichte Temperaturschwankung an der Wasseroberfläche festgestellt, welche in den tieferen Schichten kaum zu spüren war. Daraus ergaben sich optimale Zuchtbedingungen, da die Fische nur sehr schwache Temperaturschwankungen ertragen mußten und somit Stoffwechselenergie einsparten. Innerhalb der Käfige war kein Temperatursprung festzustellen, d.h. daß dort die Fische den geringeren Temperaturen der unteren Wasserschicht ausgesetzt waren. Trotz dieser Bedingungen befanden sich die Fische noch innerhalb ihrer Präferenztemperatur (Garaside & Tait 1958).

3. In der Wismarer Bucht wurde ein Salzgehalt festgestellt, der durch gewisse Schwankungen gekennzeichnet war, sich aber dennoch innerhalb des Toleranzbereichs von Regenbogenforellen befand. Die beobachteten Schwankungen könnten mit einem Salzwasserreinstrom aus der Nordsee erklärt werden (Matthäus 1993; LUM-MV 1992).

In der Ilque-Bucht wurden keine Schwankungen festgestellt. Der Salzgehalt befand sich innerhalb des Toleranzbereichs für Salmoniden.

4. Der Sauerstoffgehalt bzw. die Sauerstoffsättigung sind kritische Faktoren für viele ökologische Prozesse. Da in der Wismarer Bucht der Sauerstoffgehalt sowohl von den Wassereinströmungen aus der Nordsee in die Ostsee als auch von der Temperatur abhängig ist, kommt es in unregelmäßigen Abständen zu einer Sauerstoffreduzierung in der Wassersäule; diese unterschreitet jedoch nicht die optimalen Lebensbedingungen für Salmoniden (Wickins 1981). Die gemessenen Werte der Sauerstoffsättigung schwankten in der Produktionsphase zwischen ca. 85 % und 120 %. Diese Sättigungswerte stellen keine physiologische Beeinträchtigung der Fische dar (Rosenthal & Munro 1985).

In der Ilque-Bucht sorgte die starke tidenbedingte bidirektionale Strömung der Gezeiten für eine ausreichende Sauerstoffzufuhr, die wiederum optimale Sauerstoffkonzentrationen (Wickins 1981) für die Salmoniden sicherte.

5. Die Redoxprofile des Sedimentes in der Wismarer Bucht zeichneten sich im Sommer durch negative Eh-Werte unter den Käfigen aus. Auch an der Referenzstation wurden negative Eh-Werte gemessen.

Dabei wurde ein stärker ausgeprägter vertikaler Gradient der Eh-Werte an der Referenzstation als im Sediment unter den Käfigen beobachtet. Während unter den Käfigen so-

wohl im Juli als auch im August anoxische Bedingungen herrschten, konnten an der Referenzstation im Juli noch oxische Bedingungen festgestellt werden (Abb. 13 und Abb. 14). Dies weist auf die höhere, durch die stärkere Sedimentation bedingte, organische Belastung im Sediment unter den Käfigen hin.

In Ilque wurde unter den Käfigen eine heterogenere Verteilung des Redoxpotentials als in der Wismarer Bucht festgestellt. Dies deutet darauf hin, daß die sedimentierten Stoffe über ein großes Areal hinweg verteilt wurden und nach 2-3 Monaten der Produktion einige Stellen des Sediments stark belastet waren.

An einem alten Standort der Ilque-Bucht, der seit über einem Jahr nicht mehr genutzt wird, wurden deutlich negative Eh-Werte und trotz einer Sedimenttiefe von 22 m ein starker H₂S-Geruch an der Oberfläche festgestellt. Dies könnte als Beweis für die begrenzte Fähigkeit dieser Bucht, den organischen Eintrag der Anlagen auszugleichen, angesehen werden. Die langsame „recovery capacity“ des Sediments könnte als besonderer Nachteil dieser Bucht interpretiert werden.

6. Zwischen Wassergehalt und Glühverlust im Sediment und der entsprechenden Produktionsgröße in der Wismarer Anlage konnte eine Beziehung festgestellt werden, die jedoch nicht signifikant war, vermutlich, weil die eutrophierten Bedingungen der gesamten Bucht die Einträge der Anlage relativierten.

Vom Wassergehalt des Sediments kann im Vergleich zur Referenzstation auf eine höhere Sedimentation unter den Käfigen geschlossen werden. Durch die gegenüber den aeroben sehr viel langsameren anaeroben Abbauprozesse im Sediment kann das organische Material unter den Käfigen offensichtlich nur zu einem kleinen Teil abgebaut werden. So werden die organischen Stoffe im Sommer nicht vollständig remineralisiert und erwartungsgemäß wird im Herbst/Winter noch zusätzlich organisches Material angereichert, d.h. eine Nettoakkumulation findet statt.

Remineralisationsprodukte können im Interstitialwasser verbleiben, wo sie von Makrophyten aufgenommen werden können, oder diffundieren in die Wassersäule, wo sie anderen Photoautotrophen zur Biomasseproduktion zur Verfügung stehen (Angel *et al.* 1995a; Hoppe, unveröffentlicht).

Ein „explosiver“ Zuwachs an Makrophyten wurde ab Juni nachgewiesen. Dieser Wachstumsprozeß wurde durch die geringe Wassertiefe und die dadurch bedingte intensive Sonneneinstrahlung sowie die hohen Temperaturen gefördert (Angel *et al.* 1995 b). Negativ auf diesen Wachstumsprozeß wirkten sich möglicherweise im Juli starke Südwinde aus, die eine starke Trübung des Wassers verursachten. Ergebnisse von Findlay *et al.* (1995) und Angel *et al.* (1995a) weisen auf die Verwirbelung des Sediments als mögliche Ursache organischen Materialexports hin, was am Standort aufgrund der geringen Tiefe möglicherweise eine wichtige Rolle gespielt hat. Im Spätsommer und Herbst wurde bei Taucheinsätzen eine hohe Mortalität an Makrophyten beobachtet, welche eine erneute Einlagerung von organischem Material in das Sediment erwarten ließ.

Außerdem wurde im Juli eine Sedimentbedeckung mit *Beggiatoa sp.* oder *Desulfomonas sp.*-Matten im Bereich der Käfige beobachtet. Dieses Vorkommen wurde von Jansen *et al.* (1993) in den letzten zwei Jahren nicht nachgewiesen.

7. Die Diversitätsindizes der Benthosmakrofauna in der Wismarer Bucht zeigten für den gesamten Untersuchungszeitraum keine signifikanten Unterschiede zwischen den Käfigan-

lage und den anderen Stationen. Dies ist vermutlich auf die Auswirkung des generell sehr hohen Eutrophierungsniveaus in der gesamten Bucht zurückzuführen, so daß der Einfluß der Aquakulturanlage auf die Diversität der Benthosmakrofauna nicht zu beobachten war.

Obwohl die Makrofauna in der Ilque-Bucht nicht systematisch untersucht wurde, wurden in der Ilque-Anlage unter den Käfigen viele Gehäuseschnecken im Sediment gefunden, was darauf hinweist, daß die Sedimente erst geraume Zeit unter dem Einfluß der Käfigen standen (Tsutsumi *et al.* 1991).

Die An- oder Abwesenheit der Makrofauna wurde bereits in der Abwasserbiologie genutzt, um die Auswirkungen ungewöhnlich hoher Belastung durch organische Frachten abzuschätzen (Henderson & Ross 1995). Für die beiden untersuchten Anlagen erwies sich die Divergenz der Benthosmakrofauna als Bioindikator für die Auswirkung von Aquakulturanlagen auf die im Einzugsbereich liegenden Sedimente als unzureichend.

8. In der Wismarer Bucht wurde eine Videoanalyse durchgeführt, um die Veränderungen der Sedimentbedingungen zu registrieren. Dabei wurde festgestellt, daß die Netze eine für den Standort ungeeignete Form besaßen. Es bestand nämlich ein Kontakt der Netze zum Sediment, das verwirbelt wurde, wenn die Käfige um die Verankerung rotierten. Die zerstörenden Effekte der mechanischen Bewegung der Käfige auf die Sedimentestratifizierung wurden durch Messungen der Redoxpotentialprofile nachgewiesen.
9. Das Sedimentationsmodell (Hevia 1995) ergab in der Ilque-Bucht für die verschiedenen Stationen signifikant unterschiedliche Sedimentationsraten. Das Modell spiegelte somit in etwa die beobachteten klein- und großräumigen Unterschiede bezüglich der Bakterienkonzentrationen und der Redoxpotentiale zwischen den Stationen im Käfigbereich und der Referenzstation wider.

5.3 Die mikrobiologischen Untersuchungen

Die mikrobiologische Aktivität unter den Käfigen kann sehr hohe Werte erreichen. Dadurch werden schnell Abbauprodukte freigesetzt. Dieser Vorgang wurde an kurzzeitig benutzten Aquakulturstandorten beobachtet (Mühlhauser *et al.* 1993).

Der Beurteilung der Gewässer und des Sedimentzustandes durch Indikatoren aus der natürlichen Mikroflora sollte ein intensives Studium der hydrographischen Bedingungen vorausgehen. Da die Wassersäulenkonzentrationen in der Verfrachtung der kleinen Partikel, auch der freien und „attached“ Bakterien (Sievers *et al.* 1995), eine wichtige Rolle spielen, wurde zunächst eine Abschätzung der Sedimentation unter den Käfigen beider Standorte durchgeführt.

In Wismar lieferten die Windrichtungsdaten wertvolle Informationen zur exakten Bestimmung der Positionen der rotierenden Käfige über dem Sediment. Die Käfiganlage hat sich während der Untersuchungszeit innerhalb eines Areals, das 5-6 mal größer als die Flotille selbst war, bewegt. Es bestätigte sich, daß sich der rotierende Verankerungstyp günstig auf die größere Verteilung der organischen Fracht auswirkte. Eine Simulation der Sedimentation konnte aber nicht durchgeführt werden, da es noch kein Simulationsprogramm gibt, das rotierende Käfige mit einbezieht. Außerdem wurden die Fütterungsangaben vom Produzenten nicht exakt genug angegeben, um den Literaturangaben entsprechend einen Stoffumsatz berechnen zu können.

In Ilque erwies sich die starke und für dieses chilenische Areal charakteristische Wasserbewegung als besonders günstig für die Fischzucht. Sie verhinderte eine starke Akkumulation von Fischproduktionsresten im Sediment direkt unter den Käfigen und sorgte für einen guten Wasseraustausch. Die Simulation der Sedimentation sowie die Berechnungen des Stoffumsatzes ergaben ein exaktes Bild des Wasser- und Sedimentzustandes und somit eine sehr gute Basis für den Vergleich mit den bakteriologischen Parametern.

5.3.1 Identifizierung der isolierten Bakterien

Das Verfahren zur Isolierung von Bakterien mit Hilfe des Agarplattenverfahrens ist für Bakterien sehr selektiv. Samuelsen *et al.* (1991) berichteten, daß bis nur ca. 0,02 % der gesamten Bakterien vom Sediment unter den Käfiganlagen auf den nicht selektiven Medien wachsen können. In der vorliegenden Untersuchung wurde die Selektivität der Nährböden als vorteilhaft angesehen, da sie dem eigentlichen Ziel, nämlich nur spezielle Gruppen von Mikroorganismen aus der Wassersäule und dem Sediment im Bereich von Käfiganlagen zu isolieren und nicht die gesamte bakterielle Flora qualitativ zu untersuchen, entsprach.

Zudem wird der Nachweis solcher Organismen mit Hilfe einfacher Methoden angestrebt, damit sie als Standardtest des Aquakulturmonitoring auch von wissenschaftlich weniger qualifiziertem Personal durchgeführt werden können.

Die am häufigsten isolierten Keime stammten aus der Familie Vibrionaceae. Dies ist auf die selektive Isolation, die mit dem TCBS-Medium erreicht wird, zurückzuführen. Die gefundenen Arten, von denen etliche als fischpathogen angesehen werden können, sind teilweise natürliche Vertreter von Küstengewässern. Mitunter wurden mehrere Stämme einer Art isoliert. Bei der Interpretation der Daten muß berücksichtigt werden, daß die im Rahmen dieser Untersuchung identifizierten Arten nur einen Bruchteil jener Arten bilden, die isoliert wurden, d.h., daß nur die Ergebnisse derjenigen isolierten Keime wissenschaftlich ausgewertet wurden, deren Identifizierung problemlos erschien.

Die API-20E-Methode ist ein biochemischer Reihentest, der eigentlich für die Identifizierung von Vertretern der Enterobacteriaceae entwickelt wurde. Die größte Bedeutung dieser Technik kommt der Reaktion der Zuckergärung zu. Dadurch bestand die Möglichkeit, daß einige marine Keime nicht korrekt identifiziert werden konnten. Die o.g. Zuckergärung könnte nämlich durch vorhandene Plasmide beeinflusst werden (Austin & Austin 1987). Häufig findet die Methode aber auch in der Meeresmikrobiologie Anwendung (Austin & Austin 1985; Niemi 1985; Ullrich 1992). Der Einsatz des API-20E-Tests wird aber dennoch kritisch betrachtet (Kämpfer 1996), besonders nach der Etablierung der modernen Identifizierungsverfahren, die auf molekularer Basis durchgeführt werden. McDonell *et al.* (1982) fanden zudem heraus, daß die Anzahl positiver Ergebnisse gesteigert werden kann, wenn man Meerwasser statt Kochsalzlösung verwendet. Diese Erkenntnis konnte im Rahmen der in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen bestätigt werden. Biochemische Ungenauigkeiten des API-20E-Tests wurden von Veränderungen in Form und Farbe der Kolonien begleitet, so daß sich das Verfahren zur Identifizierung der Arten als nicht sehr effizient erwies. Um einer falschen Identifizierung vorzubeugen, wurden die erhaltenen biochemischen Ergebnisse der Testreihe mit den biochemischen Eigenschaften der Keime, wie sie in Starr *et al.* 1983; Roberts 1983; Schlotfeldt 1985; Austin & Austin 1987 und Inglis *et al.* 1994 beschrieben sind, verglichen.

5.3.2 Zeitliche und horizontale Veränderungen

Bei den Untersuchungsergebnissen des Monats Mai in Wismar war besonders zu beachten, daß die Fische erst wenige Tage vor der Untersuchung in den Käfigen ausgesetzt worden waren. Der damit verbundene hohe Eutrophierungsgrad, die sehr geringe Wassertiefe sowie die geringen Wasserbewegungen sorgten für kritische Standorteigenschaften in dieser Bucht. Trotzdem wurde ein gutes Management, u.a. durch den Verzicht von Antibiotika, die Verwendung von „high-energy“-Futter und die Ausnutzung moderner Fütterungstechniken betrieben.

In Ilque wurden mehr und größere Fische als in Wismar ausgesetzt, und zwar in Käfigen, die über einem vorher nicht benutzten Standort positioniert wurden. Im März erreichte die Biomasse in der untersuchten Flotille von Ilque ca. 35 Tonnen, was einer vergleichbaren Biomasse mit der im Juli in Wismar gezüchteten Masse entsprach. Die starke Wasserdynamik und die optimale Tiefe im Käfigbereich sorgten für sehr gute Standortbedingungen. Wegen der angewendeten Fütterungstechniken, wegen des im März erreichten hohen FCR (8,3) und vor allem wegen der intensiven Verwendung von Antibiotika, die deutlich machen, daß die veterinärmedizinischen Aktivitäten hier mehr auf Folgenbekämpfung als auf Ursachenbehebung ausgerichtet sind, wurde das Management als nicht optimal beurteilt.

An beiden Anlagen zeigten die Bakterienkonzentrationen auf den vier angewendeten Nährböden große Variabilitäten aufgrund folgender Faktoren:

1. An beiden Standorten konnte eine heterogene Verteilung durch physikochemische Variablen festgestellt werden.
2. Je kleiner das analysierte Volumen ist, um so größer ist die Wahrscheinlichkeit, Variabilitäten im Ökosystem festzustellen (Spellerberg 1991).
3. Die große Streuung der Ergebnisse ist charakteristisch für das angewendete Plattenverfahren.

Trotzdem wurden bei der Beprobung für die Untersuchung relevante Befunde ermittelt. Für die verwendeten Nährböden und für die darauf wachsenden Bakteriengruppen und -arten können dabei folgende Feststellungen getroffen werden:

ZoBell

An allen Stationen der Wassersäule und des Sediments in der Wismarer Bucht zeigten die Bakterien während des Untersuchungszeitraums einen ähnlichen Konzentrationsverlauf. Das Bild von den in Wismar untersuchten Kontrollstationen (70 m und 1000 m) spiegelte die normale bakteriologische Belastung in dieser stark eutrophierten Bucht wider. Der saisonale Verlauf wies eine gute Beziehung zur Wassertemperatur auf. In der Wassersäule sowie im Sediment wurden im Käfigbereich höhere Konzentrationen an Bakterien als an den Referenzstationen festgestellt. Obwohl die Bakterienkonzentrationen auf ZoBell keine positive Korrelation mit der Wachstumskurve der Biomasse hatten, war es möglich, den Konzentrationsunterschied zwischen Käfigbereich und Referenzstationen durch die Freisetzungen aus der Fischkultur zu erklären.

Generell kann eine Abhängigkeit zwischen den auf dem ZoBell-Medium bestimmten Bakterienzahlen, dem trophischen Niveau der Bucht und den Anlageaktivitäten festgestellt werden. Dies wurde auch von Brown (1991) beobachtet. Rheinheimer (1991) erklärte, daß in vielen Gewässern der Gehalt an organischer Substanz den begrenzenden Faktor für die Entwicklung von saprophytischen Bakterien darstellt.

In Ilque wurde in der Wassersäule eine größere Streuung der Saprophyten als in Wismar ermittelt. Außerdem konnten in der Wassersäule keine Konzentrationsunterschiede zwischen den Stationen festgestellt werden. Der Tidenhub mit Geschwindigkeiten bis zu 20 cm/s ist als Erklärung für das Fehlen signifikanter Konzentrationsunterschiede an Saprophyten denkbar. Die Verfrachtung von organischen Stoffen aus der Zuchtanlage in ihre direkte Umgebung spiegelt sich in erhöhten Konzentrationen von Bakterien im Bereich der Abwasserfahne wider. Dieser Prozeß ist in der Regel bis in eine Entfernung von 100 m von den Käfigen zu beobachten (Brown 1991; Enger 1992). Die quantitative Ermittlung erhöhter Bakterienzahlen in der Wassersäule der Ilque-Bucht wurde durch zwei Umstände erschwert:

- Die starke Strömungsgeschwindigkeit vermischte die untersuchten Wasserkörper mit den von den anderen Flottillen beeinflussten Wassermassen.
- Die ständige Änderung der Strömungsrichtung (Lemaitre & Rubilar 1992) verhinderte die genaue Verfolgung der beeinflussten Wasserkörper.

Trotz dieser Erschwernisse konnte in der Zeit zwischen dem 23.3.1995 und 11.4.1995 eine leichte Konzentrationsabnahme an Saprophyten in der Wassersäule beobachtet werden. Diese Abnahme wurde möglicherweise durch eine Antibiotikaaanwendung am Beprobungsort zwischen dem 29.3.1995 und 19.4.1995 verursacht, was darauf hindeutet, daß saprophytische Bakterien durch die Antibiotikaaanwendung in der Wassersäule gehemmt wurden, wie dies bereits von Austin (1985) beobachtet wurde.

Im Sediment dagegen wurde eine für die Stationen 1 und 3 signifikante Konzentrationssteigerung vom 23.3.1995 bis 11.4.1995 festgestellt. Der Anstieg könnte dadurch verursacht worden sein, daß die Fische aufgrund der Krankheit (*Piscirickettsia salmonis*-bedingt) weniger Nahrung aufnahmen und die Nahrungsreste in das Sediment gelangten. Der Zusammenhang zwischen kranken Salmoniden und reduzierter Nahrungsaufnahme wurde von u.a. Husevåg *et al.* (1991) und Samuelson *et al.* (1992) beobachtet. Auf dieser Nahrungsgrundlage von hauptsächlich leicht assimilierbaren organischen Stoffen war zu erwarten, daß die resistenten Bakterien über gute Wachstumsbedingungen verfügen (Rosenthal *et al.* 1995). Rheinheimer (1991) beschrieb, daß die Konzentrationsunterschiede der Saprophyten hauptsächlich auf der Zugabe von organischen Stoffen beruhen. Der entscheidende Faktor dabei ist jedoch der Anteil der leicht assimilierbaren organischen Verbindungen und nicht die Gesamtmenge an organischer Substanz.

Die Zunahme der Saprophyten konnte jedoch nicht in Beziehung zur Verschlechterung der Produktionseffizienz oder den Umweltbedingungen in der Anlage gesetzt werden. Es ist daher fragwürdig, ob ihre Konzentrationen als ständiger Indikator des Umweltzustandes im Bereich der Anlage fungieren können, da kurzzeitige Ereignisse, z.B. die Antibiotikazugabe, die Konzentrationen der Saprophyten schlagartig ändern können.

In der Ilque-Bucht wurde während der gesamten Untersuchung eine Temperatur von ca. 12°C gemessen, diese war vergleichbar mit der Temperatur der Wismarer Bucht im Juni. Bei dieser Temperatur wurden in der untersuchten Flotille der Ilque-Bucht ca. 35 t und in der Anlage der Wismarer Bucht ca. 24 t Biomasse gehalten. Obwohl sich die trophischen Bedingungen an beiden Standorten signifikant unterschieden, wurde im Sediment der Ilque-Bucht nach der Antibiotikazugabe eine signifikant höhere Konzentration an Saprophyten als in der Wismarer Bucht ermittelt. Vor der Antibiotikazugabe waren die Konzentrationen in der Ilque-Bucht geringer als in der Wismarer Bucht, unterschieden sich aber nicht signifi-

kant. In der Wassersäule wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Anlagen ermittelt.

TSA

In der Wassersäule der Wismarer Bucht sanken zwischen Mai und Juli die Konzentrationen der Bakterien, die auf TSA wuchsen. Diese leichten Konzentrationsunterschiede waren aber nicht mit dem Anstieg der Wassertemperatur und der Fischbiomasse zu begründen. Es wurden dabei sowohl im Zeitraum von Mai bis Aug./Sept. als auch in der detaillierten Untersuchung im Juli keine signifikanten Unterschiede innerhalb der Stationen der Wassersäule festgestellt. Im Bereich der Anlage wurden die Gruppen *Serratia sp.*, *Aeromonas sp.*, Enterobacteriaceae und *Tatumella sp.* häufig isoliert, ihre Konzentrationen erwiesen sich aber im Laufe der Zeit als voneinander nicht signifikant verschieden. Die auf dem TSA-Medium gewachsenen Bakterien eigneten sich hier nicht als Indikator, um den Einfluß der Aquakulturanlage auf das umgebende Areal zu beurteilen, da ihre Konzentrationen in der Wassersäule durch die freigesetzten Stoffe aus der Anlage nicht signifikant geändert wurden.

Anhand von Sedimentproben konnte hingegen gezeigt werden, daß während des gesamten Untersuchungszeitraums die Konzentrationen dieser Gruppe besonders unter den Käfigen sowie in der horizontalen Verteilung erhöht waren. Ebenso wurden signifikante Unterschiede zwischen den Stationen in der detaillierten Untersuchung vom Juli ermittelt. Die zeitliche Änderung der Konzentration war positiv mit der Fischbiomassenänderung korreliert und wurde nicht signifikant von Temperaturänderungen beeinflusst.

In der Wassersäule der Ilque-Bucht wurden keine signifikanten Beziehungen zwischen den Bakterienkonzentrationen und dem Wachstum der Biomasse registriert. Die Bakterienkonzentrationen wiesen große Streuungen auf, die wiederum auf die Hydrodynamik in der Bucht zurückgeführt werden können.

Im Sediment der Ilque-Bucht wurden kurzzeitige Veränderungen der Konzentrationen durch diese Gruppe ermittelt. Diese Veränderungen wurden vermutlich von Antibiotika resistenten Gemeinschaften, die schnell auf eine organische Anreicherung reagieren, verursacht. Eine Konzentrationssteigerung vollzog sich vom 23.3.1995 bis 11.4.1995 und eine relative Abnahme bis zum 20.4.1995. Es konnte jedoch keine Beziehung zur Verringerung der Produktionseffizienz oder den Umweltbedingungen in der Anlage beobachtet werden.

Im Juni waren die Konzentrationen in der Wassersäule in Wismar nicht signifikant verschieden von denen der Wassersäule in der Ilque-Bucht. In Ilque wurde jedoch eine deutlich höhere Streuung der Bakterienzahlen festgestellt. Die Konzentrationen an der Referenzstation in der Ilque-Bucht waren signifikant höher als die an der Referenzstation in der Wismarer Bucht.

Die Sedimentkonzentrationen lagen in beiden Buchten nahe beieinander, obwohl die Belastung durch die Sedimentation in der Ilque-Bucht aufgrund der höheren Fischbiomasse viel höher war.

Bakterien, die auf dem TSA-Medium wachsen, eigneten sich daher nicht als universelle Indikatoren, um den Einfluß der Aquakulturanlagen auf die unmittelbare Umgebung anzuzeigen.

ENDO-C

Enterobacteriaceae lassen sich in ihrer Eigenschaft als kopiotrophe Organismengruppe als Indikator zum Nachweis des Einflusses von Fäkalien nutzen. Die etwas geringeren Konzentrationen der Enterobacteriaceae ähnelten in ihrem Verlauf im Mai in der Wismarer Bucht tendenziell den Konzentrationen der Saprophyten. In der Nähe der Käfige war die Konzentration von Enterobacteriaceae deutlich höher, mit zunehmender Entfernung von den Käfigen nahm sie ab. Im Sediment konnte eine Akkumulation dieser Gruppe in den oberen Zentimetern beobachtet werden.

Die Konzentrationen der Enterobacteriaceae waren im Sommer im Käfigbereich signifikant höher als an der Referenzstation. Dies mag auf erhöhte Temperaturen und auf einen saisonbedingt erhöhten Eintrag in die Bucht zurückzuführen sein. Man muß jedoch hinzufügen, daß die Präsenz von koliformen Bakterien nicht immer unbedingt auf eine fäkale Verschmutzung hinweist (Shireman & Cichra 1994). Die erhöhte Anzahl koliformer Bakterien kann auch mit der vermehrten Abgabe dieser Bakterien durch die in einer Kultur gehaltenen Fische zusammenhängen (Niemi 1985; Ullrich 1992).

In der Wassersäule von Ilque waren die Konzentrationen der Enterobacteriaceae sehr niedrig. Es wurden in der gesamten Untersuchung nur Werte, die die Höchstkonzentration für Trinkwasser nicht überschritten (10 CFU/100 ml), gemessen. Die Enterobacteriaceae-Gruppe zeigte keine signifikante Änderung hinsichtlich ihrer Konzentration. Dies kann auf den stark strömungsbedingten Wasseraustausch und vor allem auf das Fehlen jeglicher Fäkalquellen in der Nähe der Anlage zurückgeführt werden. An den Sedimentstationen wurden ebenfalls kleine Konzentrationswerte ermittelt, die sich nicht signifikant voneinander unterschieden.

Die Konzentrationen in der Wassersäule in der Ilque-Bucht waren signifikant verschieden von denen der Wismarer Bucht. Ebenso unterschieden sich die Sedimentkonzentrationen beider Standorte im Bereich der Käfige signifikant, aber wiederum nicht zwischen den Referenzstationen.

Somit erscheint die Enterobacteriaceae-Gruppe wenig geeignet, um als Bioindikator für den Einfluß von Aquakulturanlagen auf den Umweltzustand ihrer unmittelbarer Umgebung zu fungieren. Die wichtigsten Einschränkungen ergeben sich zum einen, weil die Enterobacteriaceae nicht spezifisch für Einträge aus Fischkulturen sind und zum anderen die Präsenz koliformer Bakterien stark von Nährstoffgehalt im Wasser und Sediment abhängig ist, da diese Bakterien bei geringer Nährstoffbelastung des Standortes, wie sie für die Salmonidenzucht notwendig ist, schnell durch die natürliche Bakterienflora verdrängt werden.

TCBS

In der Wassersäule der Wismarer Bucht wurden keine signifikanten Konzentrationsunterschiede zwischen den Stationen ermittelt. Es wurden über den Zeitraum hinweg Unterschiede festgestellt, deren Ursachen leicht temperaturbedingt waren. Es wurde keine spezielle Förderung bestimmter Arten in der Wassersäule erkannt. In der Untersuchung im Juli wurden auch keine signifikanten Beziehungen zum Wasserzustand ermittelt. Der Einfluß der Fischbiomassen ließ sich daher nicht über die auf dem TCBS-Medium gewachsenen Bakterien in der Wassersäule der Wismarer Bucht zeigen.

Im Sediment dagegen war die Anzahl der Bakterien, die auf dem TCBS-Medium wuchsen, deutlich gestiegen. Wie bei den Medien ZoBell und ENDO-C wurde im Mai ein höherer Anteil an Bakterien in der Referenzstation beobachtet. Von Mai bis Aug./Sept. wurden signifikant höhere Konzentrationen an der Station unter den Käfigen ermittelt. Die Arten *Vibrio* sp. und *Aeromonas sobria* wurden besonders durch die Fischzucht gefördert. Während der Untersuchung vom Juli wurde eine signifikante Förderung der *Vibrio*-Bakterien unter den Käfigen festgestellt. Das Wachstum der *Vibrio*-Bakterien unter den Käfigen zeigte eine positive Korrelation mit den Werten des Wassergehalts und des Glühverlusts; es handelt sich um Werte, die häufig in der Beurteilung des Sedimentzustandes unter Käfigen angewendet werden (Brown *et al.* 1987; Johannessen *et al.* 1994; ICES 1995b).

Der Umstand, daß nur im Sediment Unterschiede auftreten, kann nach dem Befund von Bartley (1973) dadurch erklärt werden, daß die Bakterienkonzentrationen im Sediment integrativ die Wassersäuleschwankungen widerspiegeln.

In der Wassersäule der Ilque-Bucht wurden relativ geringe Konzentrationen an Bakterien, die auf TCBS-Medium wuchsen, ermittelt. Diese erreichten während einer Antibiotikaanwendung am 11.4.1995 einen „peak“ von 697 CFU/ml, der auf die kurzzeitige Verschlechterung des Wasserzustandes zurückzuführen sein könnte. Die Konzentrationsveränderungen der auf dem TCBS-Medium gewachsenen Bakterien in der Wassersäule könnten daher die kurzfristige Änderung des Wasserzustandes widerspiegeln.

Im Sediment wurden nur an einigen Stationen unter den Käfigen signifikante Unterschiede festgestellt. Diese Unterschiede hatten keinerlei Beziehung zu den Temperaturänderungen. Sie zeigten einen parallelen Kurvenverlauf mit der leichten Biomassenänderung (1 t) in der untersuchten Flotille. Daher besteht eine positive Beziehung zwischen der Steigerung der Bakterienkonzentrationen, die auf dem TCBS-Medium wuchsen, der Steigerung der gezüchteten Biomasse, der suboptimalen Futteraufnahme von Fischen (FCR im Mai=8,3) und der Freisetzung von Therapeutika in die Umwelt.

Die Konzentration der Bakteriengruppe an Station 2 (Ilque) war im gesamten Untersuchungszeitraum im Sediment signifikant höher als die Konzentration im Juni im Käfigbereich von Wismar. Die Konzentrationen der Bakterien an den Stationen 1, 3 und 4 in Ilque lagen anfangs unter denen der Wismarer Bucht, erreichten dann aber ein Niveau wie in der Wismarer Bucht.

Die bestehenden Korrelationen weisen darauf hin, daß sich die Bakterien, die auf dem TCBS-Medium wuchsen, dazu eignen, Aussagen über die Verschlechterung des Sedimentzustandes im Einzugsbereich beider Anlagen zu treffen.

Im einzelnen können hierfür folgende Punkte angeführt werden:

- Sie korrelierten gut mit der langfristigen Änderung der Fischbiomasse.
- Sie reagierten nicht wie die anderen Bakteriengruppen auf kurzzeitige Änderungen.
- Aufgrund ihrer Resistenz wurden sie in ihrem Wachstum nicht durch die im Sediment zu erwartenden hohen Antibiotikakonzentrationen gehemmt.
- Da bekannt ist, daß *Vibrio*-Bakterien mit den Fischfezes in hohen Konzentrationen ins Wasser gelangen können (z. B. Sugita *et al.* 1985), besteht hier ein direkter Bezug zwischen der Fischproduktion und der Abundanz dieser Bakterien in Sediment unter den Käfigen.

5.3.3 Untersuchungen im Vertikalprofil

Die Untersuchungen der Bakterienverteilung im Sediment der Ilque-Bucht ergaben keinen deutlichen Trend in der vertikalen Verteilung. Es wurde eher der heterogene Zustand unter den Käfigen widerspiegelt, besonders bei Bakterien die auf dem ZoBell-Medium wuchsen. Ein zusätzlicher Grund für diese heterogene Verteilung kann durch die Einflüsse der laufenden Antibiotikaaanwendung während der Probenentnahme erklärt werden.

Die geringe Tiefe der Wismarer Bucht eignete sich besonders gut für die Untersuchungen des vertikalen Bakterientransportes vom Sediment in die Wassersäule.

Es wurde in der Wassersäule vom Käfigbereich der Wismarer Anlage festgestellt, daß Bakterien, die auf den Medien ZoBell und auch auf ENDO-C wuchsen, sich an der Oberfläche durch signifikant höhere Konzentrationen als in den tieferen Schichten auszeichneten. Im Gegensatz dazu wiesen Medien TSA und TCBS keine signifikanten Konzentrationsunterschiede auf. Das weist darauf hin, daß die verschiedenen Gruppen Unterschiede in ihrer Hydrophobie (hydrophoben Eigenschaften) aufzeigen.

Enger & Thorsen (1992) beschrieben die Bedeutung von hydrophoben Bakterien, die die Grenzschicht Wasser/Luft kontaktieren, unter denen sich normalerweise auch pathogene Keime befinden (Enger 1992). Dieser Befund unterstreicht die Gefahr eines Kontaktes zwischen den gezüchteten Fischen und den im Neuston befindlichen Bakterien. Bezüglich der Pathogenität spielt die Neuston-Gemeinschaft eine besonders wichtige Rolle. Duff (1937) erkannte zuerst die engen Beziehungen zwischen Virulenz der Bakterien und ihrer relativen Hydrophobie. Spätere Untersuchungen ergaben, daß die physikalischen Eigenschaften virulenter Stämme aufgrund einer zusätzlichen proteinhaltigen Wand unterschiedlich waren („A-layer“, Udey & Fryer 1978). Die „A-layer“ befindet sich an der Zellwand und kann z.B. bei *Aeromonas salmonicida* eine Hydrophobiesteigerung, Zellbindungen und Zellgewebebindungen verursachen (Udey & Fryer 1978).

Bemerkenswert war ebenfalls, daß in den grundnahen Tiefen (3 m) höhere Konzentrationen an Bakterien, die auf den Medien TSA und TCBS wuchsen, nachgewiesen werden konnten als in einer Wassertiefe von 1 m und 2 m. Dies deutete auf einen möglichen Einfluß des Sedimentes auf die Wassersäule hin und könnte dadurch erklärt werden, daß bakterielle Resuspensionsprozesse stattfanden.

Während des Untersuchungszeitraums wurden mehrere Ursachen für eine Wassertrübung und der damit einhergehenden bakteriellen Resuspension beobachtet, z. B. durch starke Winde und Baggerarbeiten. Zusätzlich wurden aus dem Sediment, das einen hohen organischen Gehalt sowie ein sehr negatives Redoxpotential besaß, kontinuierlich Gasblasen freigesetzt. Die Grenzschicht der Blasen bietet den hydrophoben Bakterien eine günstige Oberfläche, um sich anzuheften. Abhängig von der hydrophoben Kraft könnten die angehefteten Bakterien die Grenzschicht Wasser/Luft durch vertikalen Transport der Blasen erreichen.

Die Bewegung der Käfige mit der entsprechenden Zerstörung der Sedimentschichtung erwies sich als ein zusätzlicher Faktor für die Gasblasenfreisetzung, was in den Videoaufnahmen festgehalten wurde. Die hydrophoben Bakterien, die sich an das Sediment anheften, verfügen somit über einen besonderen Transport zur nächsten hydrophoben Oberfläche, welche meistens die Grenzschicht Wasser/Luft ist. Hier akkumulieren sich die Bakterien normalerweise um 1 bis 4 Zehnerpotenzen höher als in den umliegenden Wassermassen. Die Grenzschicht (0,1 µm dick) ist besonders reich an Lipiden (Norkrans 1980), unmittelbar darunter befindet sich das Bakterioneuston (1 µm) (Enger 1992).

Der vertikale Transport pathogener Bakterien bis zur Grenzschicht Wasser/Luft kann sich somit zu einem wichtigen Faktor einer Produktionsstörung entwickeln. Dadurch könnte die lokal begrenzte Sedimentation im Bereich der Käfiganlage eine Gefahr für die Produktion selbst bergen. Ein uneffizientes Management kann durch einen unangemessenen Einsatz von Futtermitteln einen negativen Einfluß auf die Produktion nehmen, was durch die folgende Reaktionskette zusammengefaßt wird:

Sedimentveränderung→Vertikaltransport→Streßfaktoren→Produktionsstörung.

5.3.4 Untersuchung von Fütterungseffekten

In den untersuchten Anlagen für die Regenbogenforelle wurde, wie in manuell gefütterten Salmoniden-Anlagen üblich, eine erhöhte Schwimmaktivität der Fische kurz vor und während der Fütterung beobachtet. Kurz nach der Fütterung konnte eine erhebliche Trübung des Wasser festgestellt werden. Signifikante Steigerungen der Bakterienkonzentrationen wurden 10 min nach der Fütterung auf den Medien ZoBell, TSA und ENDO-C festgestellt. Als bemerkenswertes Ergebnis muß die auf dem TCBS-Medium gleichbleibende Bakterienkonzentration hervorgehoben werden. Die Darmflora von Küstenfischen besteht hauptsächlich aus Bakterien ihrer Umgebung, einer der Hauptrepräsentanten kann *Vibrio spp.* sein (Colwell 1962; Okozumi & Horie 1969; Sera & Ishida 1972; Yoshimizu und Kimura, 1976; Sakata *et al.* 1978; Sugita *et al.* 1985; Muroga *et al.* 1987). Diese Bakterienpräsenz kann folgendermaßen erklärt werden: Der Fischdarm übt einen selektiven Druck auf die Bakterienvölker aus (Austin & Austin 1985). Vertreter der Gattung *Vibrio* sind fakultativ-anaerobe Bakterien (Rheinheimer 1991). Da der hintere Teil des Fischdarms anoxisch ist, bietet er sich als günstiger Lebensraum für diese Gattung an, und es kann zu einer starken Anreicherung dieser Bakterien im hinteren Darmabschnitt kommen (Austin & Austin 1985). Würden die Fische unmittelbar nach der Fütterung ihre Fäzes freisetzen, könnte man unmittelbar folgend eine Steigerung der Konzentration von *Vibrio*-Bakterien erwarten. Wegen der kompakten Struktur der Fäkalpellets von Salmoniden waren diese jedoch auch 10 min nach der Fütterung noch nicht im Sediment aufgelöst. Die Fäkalpellets wurden bei Taucheinsätzen in großer Menge auf dem Sediment angefund. Diese Pellets unterlagen einer langsamen, aber stetigen Auflösung. Dieser Vorgang war begleitet von einem bakteriellen Eintrag im Sediment (Kerry *et al.* 1995b). Auf diese Weise ist die permanent höhere Konzentration an *Vibrio*-Bakterien im Bereich der untersuchten Zuchtanlagen zu erklären. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Sugita *et al.* (1985) für *Cyprinus carpio*. Da die Verdaulichkeit des Futters und die damit einhergehende Kotproduktion eine Korrelation zur FCR haben (Talbot & Hole 1994), könnte man durch die Abundanz von *Vibrio*-Bakterien das Management sowie den Einfluß auf die Umwelt kontrollieren.

Nach der Fütterung konnte ein starker Konzentrationsanstieg der auf den Medien ENDO-C, TSA und ZoBell gewachsenen Bakterien beobachtet werden. Der Konzentrationsanstieg in der Wassersäule vollzog sich innerhalb von 10 Minuten nach der Fütterung und hatte am nächsten Tag vor der Fütterung wieder geringere Werte erreicht. Diese Konzentrationschwankungen könnten folgende Ursachen haben:

1. Verwirbelung der Wassermassen

Es konnte eine Verwirbelung beobachtet werden, die kurz vor und während der Fütterung von einer stark bewegten Fischmasse ausgelöst wurde. Durch die Turbulenzen innerhalb der Käfige konnten die an der Oberfläche zahlreich vorhandenen Bakterien (s. 4.1.3.3

und 4.1.3.4) auch in tiefere Schichten der Wassersäule gelangen. Das würde zunächst eine Verringerung der Konzentration der Oberflächenbakterien bedeuten, was jedoch nicht den Untersuchungsergebnissen entsprach. In Punkt 4.1.3.3 wurde eine höhere Konzentration an Bakterien in der Grenzschicht Wasser/Luft nach der Fütterung ermittelt, daher kann ein Transport von Bakterien aus dem Neuston in tiefere Schichten aufgrund der Verwirbelung als eher unbedeutend angesehen werden.

2. Futtermittel als „carrier“

Zur weiteren Klärung wurde zunächst die Rolle der Futtermittel als „carrier“ erheblicher Bakterienmengen in Betracht gezogen. Das kann aber wiederum aufgrund der Konservierungsverfahren bei der Herstellung von Fischfutter weitestgehend ausgeschlossen werden. Sugita *et al.* 1985 fanden z.B. keine *Vibrio*-Bakterien im Trockenfischfutter. Im Gegensatz dazu beschrieb Enger (1992) die Entfernung von Bakterien aus der Wassersäule durch die Futtermittel: Die hydrophoben Bakterien aus der Grenzschicht Wasser/Luft heften sich an die Oberfläche der trockenen Futterpellets. Diese werden unter normalen Bedingungen schnell von den Fischen aufgenommen (Duis *et al.* 1995). Kerry *et al.* (1995b) dagegen beschrieben die signifikante Bedeutung des Futtermittelintrags beim Anstieg der Bakterienkonzentrationen im Sediment, nachdem kranke Fische gefüttert wurden.

3. Fischschleim

Einen zusätzlichen Faktor stellt der Fischschleim dar, der von bestimmten Bakterien besiedelt wird. Der durch den Kontakt zwischen den Fischen hervorgerufene Abrieb von Fischschleim verursachte einen signifikanten Anstieg von Bakterienkonzentrationen in Zuchtanks (Austin 1983). Außerdem konnten im Fischschleim auch fischpathogene Bakterien gefunden werden (Cipriano *et al.* 1992).

Da mit den bisher betrachteten Ursachen die beobachtete Steigerung der Bakterienkonzentrationen nach der Fütterung nur teilweise erklärt werden konnte, wurde im Sommer 1996 die Ablösung von Bakterien vom Netzbewuchs als mögliche Eintragsquelle in einer Forellenzucht der Kieler Förde untersucht (s. 4.3).

4. Mechanischer Effekt

Die Menge an Bakterien auf den Netzen sank in 30 % der Untersuchungen signifikant nach der Fütterung. Bakterien können sich bei geeignetem Nährstoffangebot und günstigen Temperaturen auf allen geeigneten Oberflächen mehrfach pro Tag duplizieren (Rheinheimer 1991); Netze, Schwimmer, Seile, usw. stellen geeignete Oberflächen für ihre Vermehrung dar. Dieser tägliche Konzentrationsanstieg von Bakterien in der Wassersäule wird teilweise durch den mechanischen Einfluß der intensiven Bewegung der Fische bei der Fütterung sowie den starken Wasserbewegungen, z.B. bei Sturmwinden, ausgelöst. Dadurch werden die Bakterien in der Wassersäule freigesetzt und der „threshold value“ erhöht sich.

Besonderes Augenmerk muß der Tatsache zukommen, daß die angewandte Quantifizierungsmethode einige nicht unwesentliche Nachteile aufwies. Der kritische Trocknungsprozeß sowie die Formaldehyd-Fixierung lösten vor den elektronenmikroskopischen Untersuchungen erhebliche Anteile des untersuchten Biofilms ab, was wiederum zu einer deutlichen Unterschätzung des Anteils freiwerdender Bakterien nach der Fütterung führte.

Obwohl die Steigerung der Saprophyten und Koliformen nicht exponentiell verlief, verursachte sie bei den Fischen einen zusätzlichen und periodischen Streßfaktor. Eine Reduzierung des Stresses bei der Fütterung wäre anstrebenswert, da sonst eine kurzfristige Sauerstoffzehrung und Veränderungen anderer Variablen verursacht werden (Mazeaud & Mazeaud 1981).

Der beobachtete kurzfristige Anstieg von Saprophyten und koliformen Bakterien nach der Fütterung eignet sich nicht für ein langfristiges Monitoring. Dagegen wurde bei Bakterien, die auf dem TCBS-Medium wuchsen, ein anderer Abundanzverlauf festgestellt, der die langzeitige Auswirkung des Managements auf den Umweltzustand der Standorte widerspiegeln könnte.

5.3.5 Konzentrationsverteilung in der direkten Umgebung der Anlage in der Wismarer Bucht.

In der Untersuchung des räumlichen Einflusses auf bakteriologische Parameter in der Wassersäule der Wismarer Bucht wurde eine Simulation der Bakterienkonzentration anhand von Beprobungen an verschiedenen Stationen in der direkten Umgebung der Anlage durchgeführt.

Dabei war zu beobachten, daß die Konzentration an Saprophyten auf den Medien TSA und ZoBell in der Nähe der Anlage zunahm (Abb. 58 und 59). Kausal könnte diese Steigerung auf die Freisetzung organischer Stoffe aus der Anlage zurückzuführen sein. Ebenfalls könnten die beobachteten Bakterienkonzentrationen einen Bezug zu den vertikalen Transportprozessen aus den hoch organischen Sedimenten wegen der geringen Wasserdynamik bei der Beprobung haben.

Sowohl die Bakterien, die auf dem ENDO-C-Medium als auch die Bakterien, die auf dem TCBS-Medium wuchsen, zeigten sehr ähnliche Verteilungen bei der Simulation der Abundanz in der Wassersäule. Eine mögliche Erklärung für ihre Verteilung wäre die Freisetzung von diffusiven Stoffen aus der Anlage, welche durch die langsame Wasserbewegung in einer bestimmten Entfernung der Anlage remineralisiert werden. Die theoretische Berechnung für eine Strömungsgeschwindigkeit von $<1\text{ cm/s}$, z. B. $0,5\text{ cm/s}$, sagt aus, daß die Wassermassen mit den höchsten Bakterienkonzentrationen 1 h 40 min zuvor in der ca. 25 m entfernten Käfiganlage anzutreffen waren. Da sich Bakterien in einer geometrischen Progression durch Zweiteilung vermehren (Schlegel 1981), werden nur drei Teilungen benötigt, um die Steigerung der Konzentration von 300 CFU/ml auf 1600 CFU/ml zu erwirken. Ihre Generationszeit betrüge daher ca. 30 Minuten. Bakterien aus natürlichen Systemen können sich am schnellsten alle 20 Minuten teilen. Realistisch betrachtet könnte man als Alternativlösung annehmen, daß die gesamten produzierten Reste und Metaboliten, die von der Fischanlage stammen, eine positive Wirkung auf die bakteriellen Populationen ausüben. Aufgrund der geringen Tiefe und des hohen trophischen Niveaus der Wismarer Bucht waren spezifische Beziehungen der verschiedenen Nährböden zum Einfluß aus der Zuchtanlage in der Wassersäule nicht deutlich genug zu erkennen, als daß man sie in dieser Bucht als Bioindikator benutzen könnte.

5.3.6 Bakteriologische Charakterisierung der Wismarer Bucht

Die Charakterisierung der Wismarer Bucht durch das Wachstum der Kolonien auf den vier Medien zeigte die höchsten Konzentrationen dieser Gruppen in der Nähe der Stadt Wismar und an der Insel Poel, besonders an den Abflüssen der beiden Kläranlagen. Bei den Sapro-

phyten, die auf den Medien ZoBell und TSA wuchsen, waren die Konzentrationen im Bereich der Anlage niedriger als an den anderen Stationen. Daher wurde bei der Betrachtung der organischen Belastung deutlich, daß die Zuchtanlage sich im am wenigsten belasteten Bereich der Bucht befand. Eine bedeutende Rolle spielten auch die dauerhaft auftretenden Konzentrationen der saprophytischen Bakterien in dieser Bucht, in der sowohl gezielte als auch diffuse organische Quellen zahlreich vorhanden sind. Die eutrophe Einstufung der Bucht spiegelte sich in der Konzentration von Saprophyten, die auf den Medien ZoBell und TSA wuchsen, wider (Dutka & Rao 1980).

Die koliformen Bakterien, die auf ENDO-C wuchsen, zeigten im Bereich der Käfige Konzentrationen außerhalb der vorgeschlagenen Höchstgrenze (unter 2000 CFU/100 ml) für Badegewässer in der EG (Fresenius *et al.* 1989). Dies könnte durch die für das Wachstum fäkalen Organismen „günstigen“ Bedingungen, die im Bereich der Käfige vorherrschten, erklärt werden. Die Charakterisierung wurde während des Hochsommers 1994 erstellt, in diesem Zeitraum fanden dort intensive touristische Aktivitäten statt. Außerdem stellt die Agrarwirtschaft einen wichtigen Teil der organischen und fäkalen Verschmutzung dar. Andere wichtige organische Verschmutzungsquellen der Bucht sind Fließgewässer und die Hafenwirtschaft.

Im Gegensatz zu den Bakterienkonzentrationen auf den o.g. anderen Medien gedeihen die Bakterien, die auf TCBS-Medium wuchsen, besonders gut in der Fischzuchtanlage. Obwohl auch hohe Konzentrationen an beiden Abflüssen der Kläranlagen festgestellt wurden, ist die Konzentration dieser Gruppe in der Anlage signifikant höher als an den anderen Stationen in der Wismarer Bucht.

Dieser Befund wird als eine weitere Bestätigung der positiven Beziehung zwischen *Vibrio*-Bakterien und dem Umweltzustand im Bereich von Fischzuchtanlagen gewertet. Der Temperatureffekt ist hierbei von untergeordneter Bedeutung, da die Bakterien, die auf dem TCBS-Medium wuchsen, an anderen organisch belasteten Stationen nicht diese Konzentrationen erreichten.

5.3.7 Effekte der Antibiotikaaanwendung

Da durch die Therapeutikabehandlung die eventuelle Anwendung von Bakterien als Bioindikatoren im Bereich von Aquakulturanlagen beeinträchtigt werden könnte, wurde die Sensitivität auf Oxytetracyclin (OT), Furazolidon (FR), Ampizillin (AMP) und Chlortetracyclin (C) für die repräsentativsten Gruppen der auf den Medien TCBS und TSA wachsenden Bakterienkulturen in beiden Anlagen getestet.

In der Wismarer Bucht konnten bei den Antibiotogramm-Tests einige multiresistente Keime nachgewiesen werden, besonders bei den fischpathogenen Arten *Pseudomonas fluorescens*. In der Ilque-Bucht kamen ebenfalls *Pseudomonas sp.* und *P. paucimobilis* mit einer Multi-resistenz vor, allerdings weniger ausgeprägt als in der Wismarer Bucht. Kerry *et al.* (1994) vermuteten, daß die Resistenz dieser Gattung natürlich ist, und daß sie als Quelle von Resistenzinformationen für andere marine Bakterienarten eine wichtige Rolle in der Resistenzübertragung spielen könnten.

Im zeitlichen Verlauf zeigten die Gemeinschaften in der Wismarer Bucht eine deutlich höhere Resistenz auf Antibiotika im kalten Mai (12°C) und eine höhere Sensitivität in den wärmeren Monaten (15,0°C bis 26,4°C). Dieser Verlauf kann durch die erheblichen Temperaturschwankungen erklärt werden, dies wurde schon von Atherr & Kasweck (1982) und Smith *et al.* (1994a, b) beobachtet. Die höhere Resistenz während der Wintermonate hat ei-

ne direkte Beziehung zu den Überlebensmechanismen der Bakterien (Sandaa 1994). Eine mögliche Erklärung dafür ist, daß verschiedene Umweltfaktoren, wie beispielsweise die Temperatur, den Stoffwechsel der Bakterien beeinflussen und dadurch die Reaktion auf Antibiotika verändern (Pursell *et al.* 1995).

Die Produktion der Fische fing erst Ende Mai in der Wismarer Bucht an, so daß die beobachtete hohe Resistenz im Mai keine Beziehung zu einer möglichen Therapie hatte, sondern möglicherweise mit natürlichen Schwankungen in den Bakteriengemeinschaften zu tun hat (Smith *et al.* 1994a).

In den Monaten mit Fischproduktion wurde eine höhere Resistenz gegenüber AMP (10 µg) und FR (50 µg und 100 µg) nachgewiesen, als sie gegenüber den anderen Antibiotika festgestellt werden konnte. Die zeitliche Betrachtung der Daten aus Ilque zeigte gegenüber FR (50 µg und 100 µg) ebenfalls eine ständig höhere Resistenz als den anderen Antibiotika gegenüber.

Alle Stationen in Wismar zeigten eine Sensitivität auf C (10 µg und 30 µg) und OT (30 µg). In Ilque zeigten die Referenzstation und Station 4, die die vermeintlich am geringsten belastete unter den Käfigen war, die höchsten Resistenzen gegenüber Antibiotika, besonders gegenüber AMP (10 µg) und OT (30 µg). Ein klarer Trend zeigte in beiden Anlagen eine erhebliche Resistenz gegenüber AMP (10 µg) und eine generelle Sensitivität auf C (30 µg). Diese Ergebnisse bestätigen, daß die deutsche Genehmigung zur Anwendung der Antibiotika Chlortetracyclin und Oxitetracyclin (Schlotfeldt & Kleingeld 1996; Schlotfeldt, pers. Mitteilung) in der Fischzucht (für den Konsum) gerechtfertigt ist. AMP gehörte nicht (und gehört auch heute nicht) zur Gruppe der in Deutschland zugelassenen Antibiotika für die Fischzucht, was sich wegen der hohen ermittelten Resistenzen als sinnvoll erweist. In Chile dagegen gibt es für die Antibiotikaaanwendung in der Fischzucht keine Beschränkung für den Typ oder die Menge der Therapeutika, soweit sie von einem Tierarzt verschrieben wurden. Sowohl in der Wismarer als auch in der Ilque-Bucht wurden höhere Resistenzwerte in den Bakteriengemeinschaften der Wassersäule als in denen der Sedimente festgestellt. Dies wurde für alle Antibiotika in beiden Buchten, bis auf AMP (10 µg) in der Wismarer Bucht, ermittelt. Smith (1996) weist in einer theoretischen Betrachtung nach, daß nur ein Bruchteil der ins Wasser gegebenen Antibiotika im Sediment verbleiben. Die Hauptmenge gelangt anscheinend in die Wildfauna und die Wassersäule, was zum Teil die Beobachtungen dieser Arbeit erklären könnte. So beschreiben Kapetanaki *et al.* (1995) in einer experimentellen Arbeit, daß die Häufigkeit resistenter Bakterien gegenüber eines in der Aquakultur häufig angewendeten Antibiotikums (OT) keine Beziehung zu seiner Konzentration im Sediment hatte. Statt dessen konnte eine Beziehung zur Menge des sedimentierten Futters (ohne Antibiotika) gefunden werden. Als Erklärung hierfür wird angeführt, daß die anaeroben Prozesse hochreduzierter Sedimente dazu führen können, Resistenzen zu entwickeln. Da die Wismarer Bucht durch ihr Eutrophierungsniveau stark reduzierte Sedimente aufwies, könnten auf diese Weise die ermittelten hohen Resistenzwerte erklärt werden. Dem gegenüber beschreiben Kerry *et al.* (1995a) eine Beziehung zwischen den mechanischen Veränderungen des Sediments und einer Erhöhung der Frequenz von Antibiotika resistenten Keimen.

Die umfangreiche Literatur liefert häufig widersprüchliche Daten zu dieser Thematik, so daß noch zahlreiche Aspekte der Ablagerungs-pathways (Coyne *et al.* 1994a, b; Pursell *et al.* 1995; Kerry *et al.* 1996), der Bioverfügbarkeit der Antibiotika (ICES 1994; Smith *et al.* 1994b) und vor allem der Kausalzusammenhänge zwischen Antibiotikakonzentration und

Resistenzhäufigkeit (Kerry *et al.* 1994; Kapetanaki *et al.* 1995; Kerry *et al.* 1995a, b; Kerry *et al.* 1996) genauer untersucht werden müssen.

Im weiteren Verlauf der Untersuchungen wurden Aspekte beobachtet, die die Bakterienresistenzen gegenüber Antibiotika beeinflusst haben könnten:

- Die Agrarwirtschaft verwendet erhebliche Mengen an Antibiotika und anderen Therapeutika. Da sie eine relevante Rolle in Mecklenburg-Vorpommern spielt, ist zu erwarten, daß ein Teil dieser Therapeutika auch in die Ostsee gelangen.
- In Wismar wurde beobachtet, daß die geringe Wassertiefe und die ungeeignete Größe der Käfignetze dazu führten, daß der unterste Teil der Netze kontinuierlich Kontakt zum Sediment hatte. Im Sediment bleiben die Effekte der Antibiotikaaanwendungen über die Therapiezeit hinaus noch für länger erhalten, so daß die vorherige Anwendung von Antibiotika biologische Folgen haben kann (Husevåg *et al.* 1991).
- Der Hafen und andere industrielle Aktivitäten Wismars setzen viele Stoffe frei, wie z.B. Lacke, Schwermetalle, Abwässer und Ballastwasser. Außerdem wird in der Wismarer Hafenfahrrinne häufig gebaggert, dadurch gelangen allochtone Materialien ins Wasser.
- In der Humanmedizin angewendetes Ampicillin und andere Penizilline könnten durch Krankenhausabflüsse freigesetzt werden und in die Wismarer Bucht gelangen.
- Es wurden signifikante Mengen an Schwermetallen im Sediment der Wismarer Bucht nachgewiesen (LUM-MV 1992). Sie treten auch häufig in Aquakulturanlagen auf, in denen sie in großen Mengen als Antifoulings von Netzen, Seilen und Schwimmkörpern Anwendung finden (hauptsächlich auf Kupfer basierend). Gerade nach der Einbringung der in Konservierungsmittel gebadeten Materialien konnte in Ilque eine Diffusion der Antifoulings in die Wassersäule beobachtet werden.
- Andere Materialien können ebenfalls Schutzmechanismen der Bakterien hervorrufen. Dabei entwickeln sie genau dieselben Schutzmechanismen wie bei der Antibiotikaresistenz (Forth *et al.* 1977).
- Bakterien können eine natürliche Antibiotikaresistenz entwickeln und ändern (Smith *et al.* 1994b), so daß sie auch ohne externe Faktoren in der Natur in ganz verschiedenen Sensitivitäten auf die Therapeutika auftreten können.

Bemerkenswert ist die Resistenz der Bakteriengemeinschaften aus dem Forellendarm, wobei Resistenzen von *A. sobria*, *Pseudomonas sp.*, *Enterobacter sp.* und *A. salmonicida* gegenüber Ampicillin festgestellt wurden. Dieser Befund kann einen Kontakt der gezüchteten Fische mit AMP oder mit einem anderen Antibiotikum aus der Gruppe der Penizilline nicht ausschließen, obwohl einige Gram-negative Bakterien eine natürliche AMP-Resistenz besitzen (Smith *et al.* 1994b). Andererseits fanden Toranzo *et al.* (1993) heraus, daß Bakterien aus Forellen-Zuchtanlagen gegenüber dem Antibiotikum AMP die höchste Resistenz zeigten. Die vollständige Resistenz gegenüber AMP bei verschiedenen Bakterienarten im Forellendarm kann möglicherweise auf die Übertragung von R-Plasmiden zurückgeführt werden, wie Kerry *et al.* (1995b) vermuteten. Angles *et al.* (1993) stießen auf einen höheren Plasmidentransfer in Biofilmen als in der Wassersäule, und die interspezifische Übertragung von R-Plasmiden wurde bereits von Sandaa *et al.* (1992) in Sedimenten von Aquakulturanlagen festgestellt. Es ist daher sehr wahrscheinlich, daß der Forellendarm einen günstigen Raum für die R-Plasmid-Übertragung darstellt. Die effektivere Übertragung von R-Plasmiden im Forellendarm könnte somit den dort lebenden Bakteriengemeinschaften Resistenzen gegenüber Antibiotikaaanwendungen verschaffen und somit ihre Überlebenschancen im Sediment unter den Käfiganlagen verbessern.

Zahlreiche Untersuchungen berichten über eine zunehmende Resistenz gegenüber Antibiotika (Torsvik *et al.* 1988; Husevåg *et al.* 1991; Samuelsen *et al.* 1992), was für den Einsatz der Bakterien als Bioindikatoren im Bereich der Aquakulturanlagen von Vorteil ist.

Ein weiterer Faktor für die unbedeutenden Effekte, die Antibiotika haben können, sind die sehr geringen Konzentrationen von Antibiotika, die nach einer Behandlung im Sediment gefunden wurden (Coyne *et al.* 1994).

In der Wismarer Bucht wurden in der Jahresproduktion von 1994 keine Antibiotika eingesetzt. In der untersuchten Flotille der Ilque-Bucht dagegen wurden drei Behandlungen während der gesamten Untersuchung durchgeführt. Dabei wurden je ca. 10 kg Antibiotika eingesetzt. Trotzdem konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den von den Bakteriengemeinschaften entwickelten Resistenzen in beiden Anlagen festgestellt werden.

Die durch andere küstennahen Zuchtanlagen, Fischfarmen, etc., hervorgerufene Umweltbelastung der Fischzuchtanlagen überlagert sich mit der Belastung durch atmosphärische Schadstoffe. Allen durch die Belastung der natürlichen Ressourcen hervorgerufenen Belastungen der Ertragszuchtanlagen, die für wirtschaftliche Verluste verantwortlich werden, wenn sich die Produktion zu einem Stand von "total capacity" (Hart-Duch) befindet. Andererseits kann ein gutes Management sehr im Vorteil werden, wenn sich die Anlage an einem stark eutrophisierten Standort mit geringem Wasserwechsel befindet (Wismarer Bucht).

Ein wissenschaftliches Bild der Belastung aus der Fischzucht wurde dagegen mit mikrobiologischen Methoden auf dem Hintergrund der Bestimmung der Kolonienzeiten auf dem TCBS-Medium gewonnen. Im Gegensatz zu den Bakteriengruppen, die auf der ersten Medienstufe bestimmt wurden, ergaben sich deutliche Relationen zwischen Bakterien auf dem TCBS-Medium und Änderungen in der Fischzucht. Dies gilt besonders für die Salmonellabakterien. Korrelationen zwischen der Bakterienzahl pro Liter Konzentration der auf dem TCBS-Medium gewachsenen Bakterien konnten ebenfalls in der Wasserprobe festgestellt werden. Sie waren aber durch die Sedimentzusammensetzung und -geschwindigkeit abhängig und daher in der Regel nicht zur Bestimmung interpretierbar. In der Wismarer Bucht zeigten sich die Abänderungen dieser Gruppen nicht als geeignete Bioindikatoren nach der Wasserprobe, während diese Gruppen Konzentrationsunterschiede im Bereich der Anlage im Vergleich zu ihrem Umweltstandort zeigten.

Seit der Arbeit von Liner (1967) ist bekannt, daß Bakterienarten der Gattung *Vibrio* Hauptverursacher in der Erkrankung von Fische sind. Zwischenzeitlich wurde *Vibrio* spp. als ein sehr wichtiger Pathogen für Fische in fließendem Wasser (Salmoniden, insbesondere Salmoniden und andere Aquarienfische beschrieben (Kowal 1962, Seta & Liner 1972, Yoshimizu & Kinoshita 1976, Wilson *et al.* 1978, Minaga *et al.* 1987). *Vibrio*-Arten können sich als opportunistische Bakterien besonders im letzten, anaeroben Teil des Fischmuskels ansiedeln, wie erwähnt (Yoshimizu & Kinoshita 1976). Die Fische der Flotte werden durch ein starkes Anzeichen *Vibrio*-Bakterien dargestellt, was gelingen, das selbst pathogenes Bakterien in die Sedimente, wo es bei hoher organischer Belastung die höchsten yale Lebensbedingungen vorfinden. Durch Exposition oder Aufnahme können diese wieder *Vibrio*-Bakterien in die Wasserprobe gelangen und dort in hoher Konzentration leben.

6. Schlußfolgerung

Die Untersuchungen der zwei, von den geographischen und physikochemischen Bedingungen her sehr unterschiedlichen Standorte erbrachten neue Erkenntnisse bezüglich der ökologischen Auswirkungen von Aquakulturanlagen und ihres Managements auf die direkte Umgebung. Diese erlaubten die Ergänzung des bestehenden Aquakulturmonitorings mit Hilfe mikrobiologischer Methoden.

Es wurde gezeigt, daß die Messung gängiger, physikochemischer Variablen nicht ausreichend ist, den Umwelteinfluß dieser Betriebe und ihrer Betriebsweise hinreichend bewerten zu können. Grund dafür war, daß die Standortfaktoren, wie auch die durch andere Küstennutzer bedingten Einflußfaktoren, den Umwelteinfluß der Fischzuchtanlagen überlagerten und die Messungen stark mitbeeinflussten.

Allein durch die Erfassung der physikochemischen Parameter kann daher der Eintrag einer Aquakulturanlage auf die unmittelbare Umwelt unterschätzt werden, wenn sich die Produktion an einem Standort mit hoher „holding capacity“ (Ilque-Bucht) befindet. Andererseits kann ein gutes Management schlecht beurteilt werden, wenn sich die Anlage an einem stark eutrophierten Standort mit geringem Wasseraustausch befindet (Wismarer Bucht).

Ein realistischeres Bild des Eintrages aus der Fischzucht wurde dagegen mit mikrobiologischen Methoden und hier im speziellen mit der Bestimmung der Kolonienanzahlen auf dem TCBS-Medium gewonnen. Im Gegensatz zu den Bakteriengruppen, die auf den anderen Nährböden bestimmt wurden, ergaben sich deutliche Relationen zwischen Werten auf dem *Vibrio* selektiven TCBS-Medium und Änderungen in der Fischbiomasse. Dies galt besonders für die Sedimente beider Buchten. Korrelationen zwischen der Fischbiomasse und den Konzentrationen der auf dem TCBS-Medium gewachsenen Bakterien konnten ebenfalls in der Wassersäule festgestellt werden. Sie waren aber deutlich von Strömungsrichtung und -geschwindigkeit abhängig und daher in der Ilque-Bucht nur begrenzt interpretierbar. In der Wismarer Bucht erwiesen sich die Abundanzen dieser Gruppen jedoch als geeignete Bioindikatoren auch in der Wassersäule, wo signifikante Konzentrationsunterschiede im Bereich der Anlage im Vergleich zu ihrem Umfeld ermittelt wurden.

Seit der Arbeit von Liston (1957) ist bekannt, daß Bakterienarten der Gattung *Vibrio* Hauptvertreter in der Darmflora von Plattfischen sind. Zwischenzeitlich wurde *Vibrio* spp. als ein sehr wichtiger Vertreter der Intestinalflora verschiedener Fischarten inklusive Salmoniden und anderer Aquakulturfische beschrieben (Colwell 1962, Sera & Ishida 1972, Yoshimizu & Kimura 1976, Sakata *et al.* 1978, Muroga *et al.* 1987). *Vibrio*-Arten können sich als fakultativ anaerobe Bakterien besonders im hinteren, anoxischen Teil des Fischdarmes vermehren und anreichern (Yoshimizu & Kimura 1976b). Die Fäzes der Fische werden daher mit einem hohen Anteil an *Vibrio*-Bakterien abgegeben und gelangen mit den schnell sedimentierenden Fäkalpellets in die Sedimente, wo sie bei hoher organischer Belastung der Sedimente gute Lebensbedingungen vorfinden. Durch Resuspension oder Ausgasung können dann wieder *Vibrio*-Bakterien in die Wassersäule gelangen und dort zu einer Anreicherung führen.

Die Konzentration dieser Bakteriengruppe ist daher anlagenspezifisch und wird von Wasseraustausch, Fischbiomasse, Futtereffizienz und anderen Produktionsbedingungen bestimmt.

Da *Vibrio sp.* ubiquitär verbreitet ist (Southgate 1993), kann die Bestimmung der Sedimentkonzentration auf dem TCBS-Medium im Bereich intensiver Forellenanlagen küstennaher Gebiete ein realistisches Bild der Auswirkungen des Fischzuchtmanagements auf den Umweltzustand der Anlagen und ihrer unmittelbaren Umgebung widerspiegeln. Diese Bestimmung stellt eine wichtige Ergänzung für das Monitoring in der intensiven Aquakultur küstennaher Gebiete dar, da sie insbesondere eine Aussage über die Effizienz des Managements am Standort zuläßt.

7a. Zusammenfassung

Durch den beträchtlichen Forschungsaufwand, der im letzten Jahrzehnt in der modernen Aquakultur betrieben wurde, konnten erhebliche Fortschritte in der Produktionsleistung und im Umweltschutz erzielt werden. Dieses wird durch die aktuellen Gesamtproduktionszahlen in der Fischzucht von ca. 22 Millionen Tonnen deutlich.

Es bestehen allerdings weiterhin Kenntnisdefizite bezüglich der ökologischen Auswirkungen, die dieser Industriezweig verursacht. So ist bis heute durch das Fehlen eines Programmes mit standardisierten Monitoringmethoden für die Küstenzonen eine geeignete und vergleichbare Kontrolle der Interaktionen zwischen Aquakultur und Umwelt schwer möglich. Dieses hat sich in einigen Ländern zum Nachteil der weiteren Entwicklung der Aquakultur ausgewirkt, weil den Umweltbehörden geeignete Kontrollmethoden fehlen und sie daher Aquakulturen verbieten.

Die vorliegende Arbeit sollte einen Beitrag zur Ergänzung der Monitoringmethoden und zur Steigerung der Produktionseffizienz leisten. Ziel dieser Arbeit war es, Bakteriengruppen auf ihre Eignung als Bioindikatoren für den Sediment- und Wassergütezustand im Einzugsbereich von Käfiganlagen in Küstenregionen zu prüfen. Gleichzeitig wurden generelle mikrobiologische Aspekte berücksichtigt, die in Zusammenhang mit dem Anlagenmanagement stehen und die daher für den Produzenten von Interesse sind.

In dieser Studie wurden zwei Anlagen mit Meerforellen in geographisch sehr unterschiedlichen Regionen (deutsche Ostseeküste und südliche Küstenregion in Chile) mit verschiedenen Produktionszahlen und Management untersucht. An beiden Standorten wurde eine Charakterisierung mit in der Aquakultur gängigen, standardisierten physikochemischen Bestimmungsparametern durchgeführt. Die in dieser Arbeit ermittelten mikrobiologischen Datensätze wurden mit den Ergebnissen der physikochemischen Messungen sowie den Produktionsdaten verglichen und in Relation gesetzt.

Mit Hilfe der physikochemischen Variablen wurde eine geringe Belastung in der Ilque Bucht und eine starke Belastung in der Wismarer Bucht festgestellt, obwohl Produktionsdaten und Stoffumsatz das Gegenteil zeigten. Damit konnte bewiesen werden, daß allein die physikochemischen Methoden nicht immer geeignet sind, den Einfluß von Einträgen aus Aquakulturanlagen an den einzelnen Standorten zu erfassen, besonders wenn organische Belastungen oder unterschiedliche Wasserumtauschraten vorlagen.

Es wurden deutliche Beziehungen zwischen den bakteriellen Prozessen und den Produktionsparametern aus der Aquakulturanlagen, wie z. B. der Größe der Biomasse in den Käfigen, der Menge an zugesetzten Antibiotika oder der Menge an gelösten Futtermittelresten, aufgezeigt.

Die saprophytischen Bakterien, die auf den ZoBell- und TSA-Medien wuchsen, reagierten mit beachtlicher Schnelligkeit auf die Präsenz von organischem Material, daß durch abgegebene Fäzes oder nicht aufgenommene Futtermittelreste freigesetzt wurde. Allerdings variierten sie beachtlich nach der Zugabe von Antibiotika oder in Folge von Temperaturänderungen, wodurch die Frage nach der Nutzbarkeit dieser Gruppe als Indikator in Langzeitstudien aufgeworfen wird. Ebenso zeigten die Bakterien, die auf dem ENDO-C-Medium wuchsen, keine klare Beziehung zur Produktionsgröße und dem Zustand der Umgebung. Dies hängt möglicherweise mit den Ansprüchen dieser Gruppe an hohe Nährstoffkonzentra-

tionen zusammen, eine Voraussetzung für die Entwicklung an Standorten, die nicht ihrem natürlichen Lebensraum entsprechen.

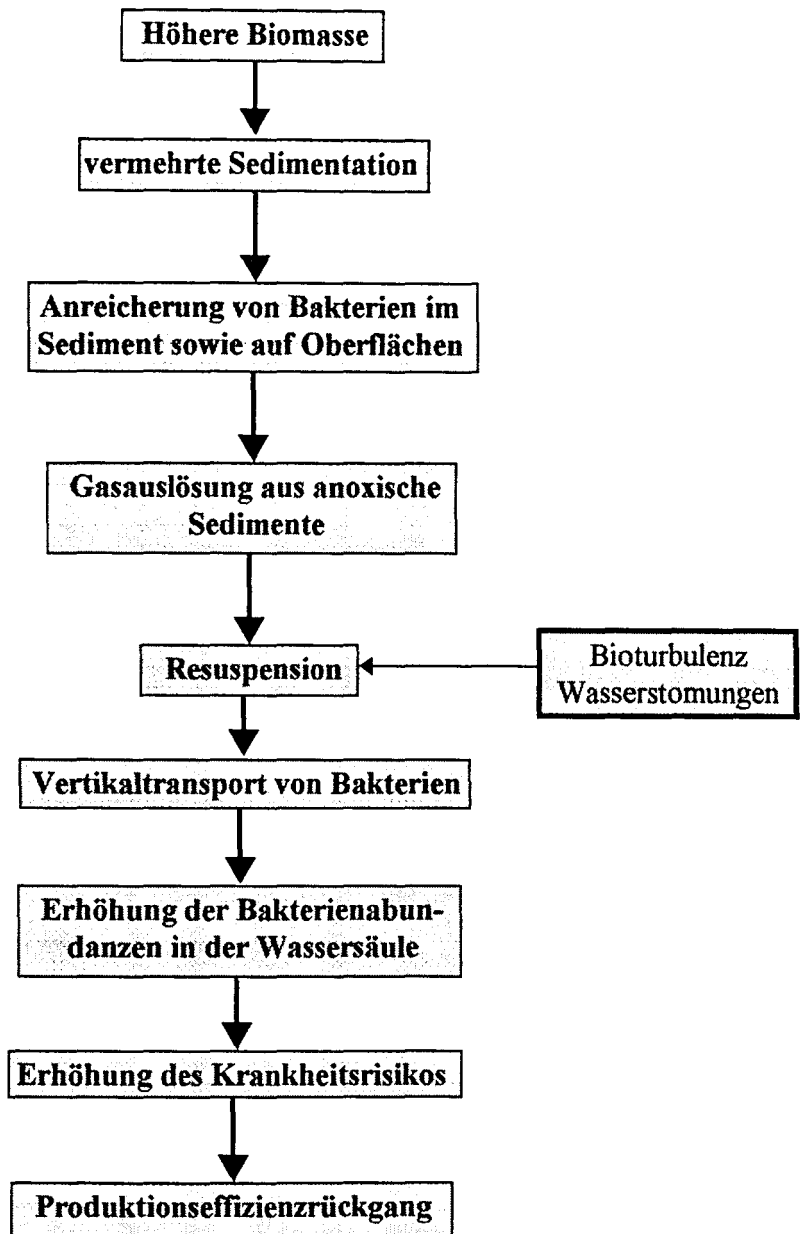
Dagegen wiesen die Bakterien, die auf TCBS wuchsen, eine gute Beziehung sowohl zur Biomasse der Anlage als auch zum generellen Umweltzustand auf. Im Unterschied zu den anderen drei mikrobiologischen Gruppen zeigten sie in Kurzzeit- und in Langzeitstudien ein zur Produktionszunahme parallel verlaufendes Vorkommen, das nicht wesentlich durch die Anwendung von Antibiotika oder durch Temperaturänderungen beeinflusst wurde. Bakterien der Gattung *Vibrio* können einen großen Bestandteil in der bakteriellen Intestinalflora von Küstenfischen, u.a. der Salmoniden, ausmachen. Der Zusammenhang zwischen *Vibrio* Bakterien und der Biomasse einer Anlage kann demnach über deren Transport mit den Fekalpellets in das Sediment erklärt werden. Dort können die Bakterien, in Abhängigkeit vom Management, ebenfalls reichlich organisches Material vorfinden und sich dann aufgrund der häufig anoxischen Sedimentbedingungen vermehren. Auf diese Weise reflektiert die Bakterienabundanz von *Vibrio* sowohl die Biomasse in den Käfigen als auch den Zustand des Sediments.

Zusätzlich läßt sich ein umgekehrter Vertikaltransport aus dem Sediment in die Wassersäule durch Resuspension von Bakterien durch Turbulenzen oder beim Ausgasen beobachten. Dabei kann es auch zu einer Anreicherung fischpathogener Bakterien in der Wassersäule kommen. Zwischen Bakterienabundanzen, produktionsbedingten Effekten und den generellen Umweltbedingungen ergaben sich dabei folgende Zusammenhänge:

1. Während der Fütterung der Fische war eine signifikante Steigerung der saprophytischen und koliformen Bakterien im Wasserkörper innerhalb der Käfige zu verzeichnen.
2. Im Neuston häuften sich Mengen an Bakterien an, die ein bis vier Zehnerpotenzen höher lagen als in der darunterliegenden Wassersäule. Die Konzentration der auf ENDO-C und TCBS wachsenden Bakterien sind im Neuston nicht wesentlich höher. Das Einmischen von Neuston-Bakterien in die darunterliegenden Wasserschichten durch die erhöhte Schwimmaktivität der Fische während der Fütterung kann den beobachteten Anstieg der Bakterienkonzentrationen nach der Fütterung allerdings nicht erklären.
3. Durch die Bewegung der Fische während der Fütterung werden die Bakterien von den Netzen und anderen schwimmenden Gegenständen abgelöst, und können so den beobachteten Anstieg der Bakterienkonzentrationen in der freien Wassersäule zum großen Teil erklären.
4. Die Ausscheidung von Fäzes, die kurz nach der Fütterung stattfindet, hat keinen sofortigen Einfluß auf die Bakterienkonzentration im Wasserkörper, da diese schneller durch die Wassersäule sinken und selbst einige Stunden nach ihrer Ausscheidung noch intakt auf der Sedimentoberfläche beobachtet werden konnten.

Einen weiteren Risikofaktor stellt die Anreicherungen von Bakterien an Oberflächen (Fische, Netze, Grenzschicht Wasser / Luft) im Bereich der Käfiganlagen dar, wie die Untersuchungen zum Netzbewuchs und den Fütterungseffekten zeigten.

Generell lassen sich somit die Folgen einer erhöhten Fischproduktion in einer Problemkette darstellen:



Nach Beurteilung der Ergebnisse dieser Untersuchungen stellt die Bakteriengruppe, die auf TCBS wuchs, einen geeigneten Indikator des Umweltzustandes sowie der Produktionseffizienz einer Aquakulturanlage dar. Diese Bakterien stehen somit als eine weitere Variable zur Ergänzung des bestehenden Monitorings in intensiv bewirtschafteten Aquakulturanlagen in Küstengebieten zur Verfügung.

7b. Resumen

El enorme adelanto científico que ha logrado la acuicultura moderna en la última década ha logrado elevar el nivel de eficiencia y control ambiental de esta actividad. Este progreso es el más rápido experimentado en la rama de las pesquerías, lo que ha permitido elevar la producción mundial por encima de las 22 millones de toneladas anuales.

Sin embargo aun persisten algunos vacíos concernientes a interacciones ecológicas, sin encontrar una adecuada respuesta a las actuales necesidades de la industria. Es así como la falta de un programa de monitoreo estandarizado para zonas costeras ha impedido un adecuado y comparable control ambiental, lo que ha repercutido en algunos países con impedimentos para el deseado desarrollo debido a la falta de herramientas de control por parte de las autoridades.

La presente investigación considera un estudio de grupos bacterianos con el objetivo de comprobar la factibilidad utilizarlos como indicadores de la condición de aguas y sedimentos en áreas de cultivos de peces en zonas costeras. A la vez considera aspectos eco-microbiológicos generales que comprueban los efectos que la calidad del manejo tiene en procesos microbiológicos que son de directo interés en la eficiencia de la producción.

Se consideraron para el estudio dos cultivos intensivos de truchas en zonas geográficas completamente distintas (Mar Báltico y costa sur de Chile), con distintos niveles de producción y con considerables diferencias en el manejo. En ambos sitios se llevó a cabo una caracterización con parámetros fisicoquímicos comúnmente utilizados en estudios de impacto ambiental para la acuicultura. Estos datos fueron correlacionados con los datos de flujo de materia y con datos de abundancia bacteriana en los medio de cultivo electivos ZoBell y TSA y en los medios selectivos ENDO-C (*Enterobacteriaceae*) y TCBS (*Vibrio*).

El estudio de variables fisicoquímicas evaluó positivamente el sistema en la Bahía de Ilque (Chile) y negativamente el cultivo en la Bahía de Wismar (Alemania). Por el contrario, el estudio de los parámetros de producción de ambas empresas demostraron que el manejo llevado en Wismar presentaba considerables ventajas teóricas y prácticas con respecto al llevado en Ilque. Se pudo de esta manera comprobar que estudios ambientales que solamente consideran parámetros fisicoquímico no siempre son adecuados para determinar efectos ambientales de los cultivos intensivos, principalmente cuando existe un impacto orgánico anterior (ej.: Wismar) o debido a las distintas tasas de renovación de aguas. De esta manera el principio de protección ambiental „pensar globalmente y actuar localmente“ no es considerado por el actual enfoque de estudios medioambientales.

Los estudios de las comunidades microbiológicas presentaron las siguientes relaciones con los parámetros de producción (ej.: biomasa en cultivo, cantidad de antibióticos, alimento ingerido).

Las bacterias saprófitas que se desarrollaron sobre los medios ZoBell y TSA demostraron una gran rapidez para aprovechar la materia orgánica lábil desprendida a través de fecas o alimento no consumido. Demostraron a la vez considerables variaciones ante aplicaciones de antibióticos o cambios térmicos, lo que hace cuestionable la utilización de este grupo en un monitoreo a largo plazo. Igualmente las bacterias que se desarrollaron sobre el medio ENDO-C tampoco demostraron una relación clara con los niveles de producción y estado ambiental, posiblemente debido a la exigencia de este grupo de grandes cantidades de mate-

ria orgánica y generalmente de una fuente de emisión para que se puedan desarrollar en un ambiente acuático-mesotrófico, que no les es natural.

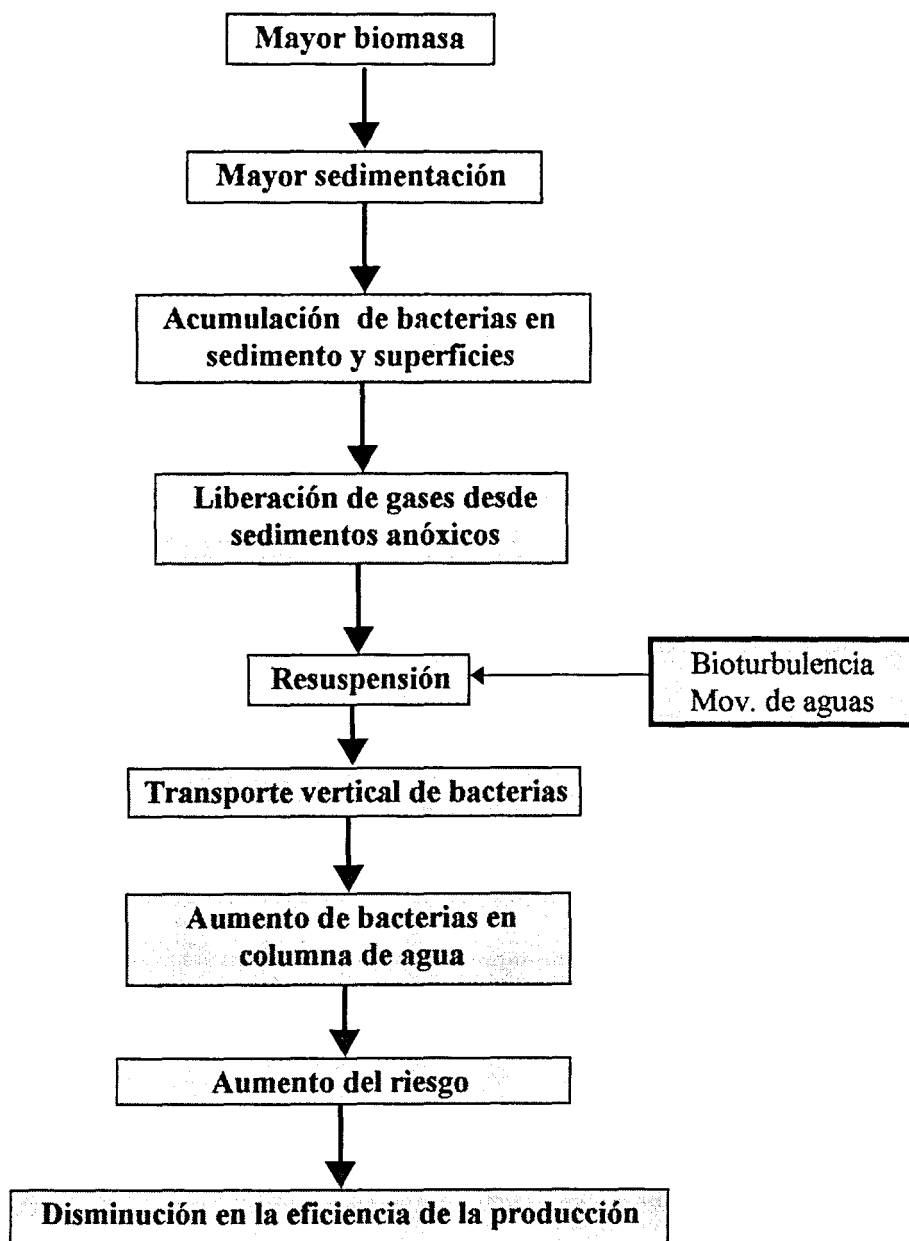
Contrariamente, las bacterias desarrolladas sobre el medio TCBS demostraron tener una buena relación con la biomasa en cultivo, como con las condiciones ambientales generales, especialmente en los sedimentos. A diferencia de los otros tres grupos microbiológicos desarrollaron tanto a largo como a corto plazo un desarrollo paralelo con la biomasa, lo que no fue afectado de manera significativa por aplicaciones de antibióticos o cambio térmicos (ambos estudios fueron desarrollados en condiciones de primavera, otoño y verano). Bacterias del género *Vibrio* (facultativas anaeróbicas) son uno de los representantes más importantes en los pellets fecales de varias especies de peces costeros, incluidos salmonídeos, debido a la presión de selección que ejerce el sistema digestivo de los peces. La correlación de este grupo de bacterias con los factores de producción podría, por lo tanto, explicarse a través del transporte bacteriano a través de los pellets fecales hasta los sedimentos ricos en materia orgánica. Una vez ahí se desarrolla este grupo bacteriano según las condiciones del sedimento, las cuales generalmente son anóxicas principalmente en los cultivos donde el manejo es deficiente, los alimentos son de baja digestibilidad y la tasa de conversión del alimento e ingestión es baja. De esta manera la concentración de bacterias del género *Vibrio* es un factor tanto de la biomasa en cultivo como de las condiciones del sedimento.

Por otra parte los motivos de correlación entre las bacterias con los parámetros de producción y condiciones ambientales generales fueron estudiados en detalle y demostraron que:

1. Durante la alimentación manual de peces se produce una alza significativa de bacterias en el cuerpo de agua dentro de la balsa. El aumento está conformado principalmente por bacterias saprófitas y aquellas que se desarrollan sobre ENDO-C.
2. En el neuston se acumula una cantidad de bacterias saprófitas uno a cuatro exponentes mayor que en las restantes capas de aguas. La concentración de bacterias que se desarrolla en los medios ENDO-C y TCBS no están significativamente mas representadas en el neuston. La mezcla de las bacterias hidrofóbicas del neuston con capas de agua bajo él durante la turbulencia causada por el movimiento de peces en la alimentación, no puede explicar el aumento de bacterias debido a que la concentración en el bacterioneuston también se eleva después de la alimentación.
3. El aumento en la concentración está dado en parte por la desadherencia de bacterias desde redes, el mucus de los peces y otras estructuras flotantes que son sacudidas por el movimiento de los peces durante la alimentación.
4. La producción de fecas después de la alimentación no afecta inmediatamente la concentración de bacterias en el cuerpo de agua, debido a que los pellets fecales enteros no se disuelven y fueron observados sobre los sedimentos incluso algunas horas después de ser evacuados.

Un segundo aspecto microbiológico de importancia para el manejo representan los sistemas de transporte vertical bacterianos. Sedimentos ricos en materia orgánica liberan permanentemente burbujas de gases, superficie de las cuales ofrecen un medio ideal para la adhesión de bacterias hidrofóbicas. De esta manera estas bacterias son elevadas y pueden alcanzar otras superficies (peces, redes, neuston, etc.). La hidrofobicidad de las bacterias se correlaciona positivamente con su grado de patogenicidad, lo que incorpora un factor de riesgo adicional al ampliamente tratado problema de enriquecimiento orgánico. En general los re-

sultados de una mayor producción, bajo un manejo deficiente pueden hacerse claros en el siguiente esquema:



Según el análisis de los resultados obtenidos en estas investigaciones se presenta el grupo de bacterias que se desarrolla sobre el medio selectivo TCBS (bacterias del género *Vibrio*) como un grupo adecuado para ser utilizado como indicador del estado ambiental y de la eficiencia en la producción. Por lo tanto se presenta este grupo como una variable adicional a incluir en los estudios y monitoreos de aguas y sedimentos cercanos a sistemas de cultivos intensivo de peces en zonas costeras.

7c. Summary

The rapid scientific development of modern aquaculture over the last decade has improved its efficiency considerably, a factor which also has advantages for the environment. This fisheries branch is expanding rapidly and is partially responsible for an actual yearly production of around 22 million tons.

Never-the-less, there are still areas where information about ecological interactions are scarce. This tends to lead to unfavourable reactions with regard to further development of the aquaculture industry. This is the case in many coastal areas where the lack of standardised environmental monitoring has resulted in the banning of proposed new installations.

The present study considers whether bacterial groups can be used as indicators of water and sediment condition around intensive aquaculture farms in coastal areas. It also considers general microecological aspects that contribute to the understanding of the effects of management quality and possible alterations in the production.

Two trout farms experiencing very different conditions, were selected for these investigations; one located on the German coast of the Baltic Sea (Wismar) and the other on the Pacific southern coast of Chile (Ilque). Both farms had different levels of production and management policies differed considerably. General environmental conditions were assessed at both sites using physicochemical parameters currently used for standard environmental assessment of fish farms. Data obtained from this were correlated with matter flux and with colony growth on the following four bacteriological media: ZoBell and TSA, as elective media of the saprophytic bacteria, and ENDO-C (for Enterobacteriaceae) and TCBS (*Vibrio*), as selective media.

The physicochemical data were well correlated with site condition, except in the case of specific events at Wismar (e.g. organic enrichment or different water exchange rate). Under such conditions the physicochemical monitoring was of little use for control or producer. The physicochemical variables showed that the environmental conditions at the Chilean site were very good but were bad at the German site. Contrary to this, the production data indicated that the releases to the environment were much greater at Ilque than at Wismar. Never-the-less, apparently relatively good management was exercised at the German farm, the quantity of wastes being partially overseen by the physicochemical analysis of condition. The bacterial concentrations were significantly positively correlated with biomass, antibiotic usage and the amount of food supplied.

The saprophytic bacteria developed on ZoBell and TSA -Media demonstrated a rapid reaction to organic enrichment as a result of faecal deposition and non-ingested-pellets. These bacteria also responded quickly to other factors, such as antibiotic utilisation and changes in temperature. This was considered as disadvantageous for long term monitoring. Bacteria that developed on ENDO-C did not demonstrate a clear relationship between production and environmental condition. That is partially explained by the high organic requirements of this group and the absence of any significant source in the vicinity of the cages.

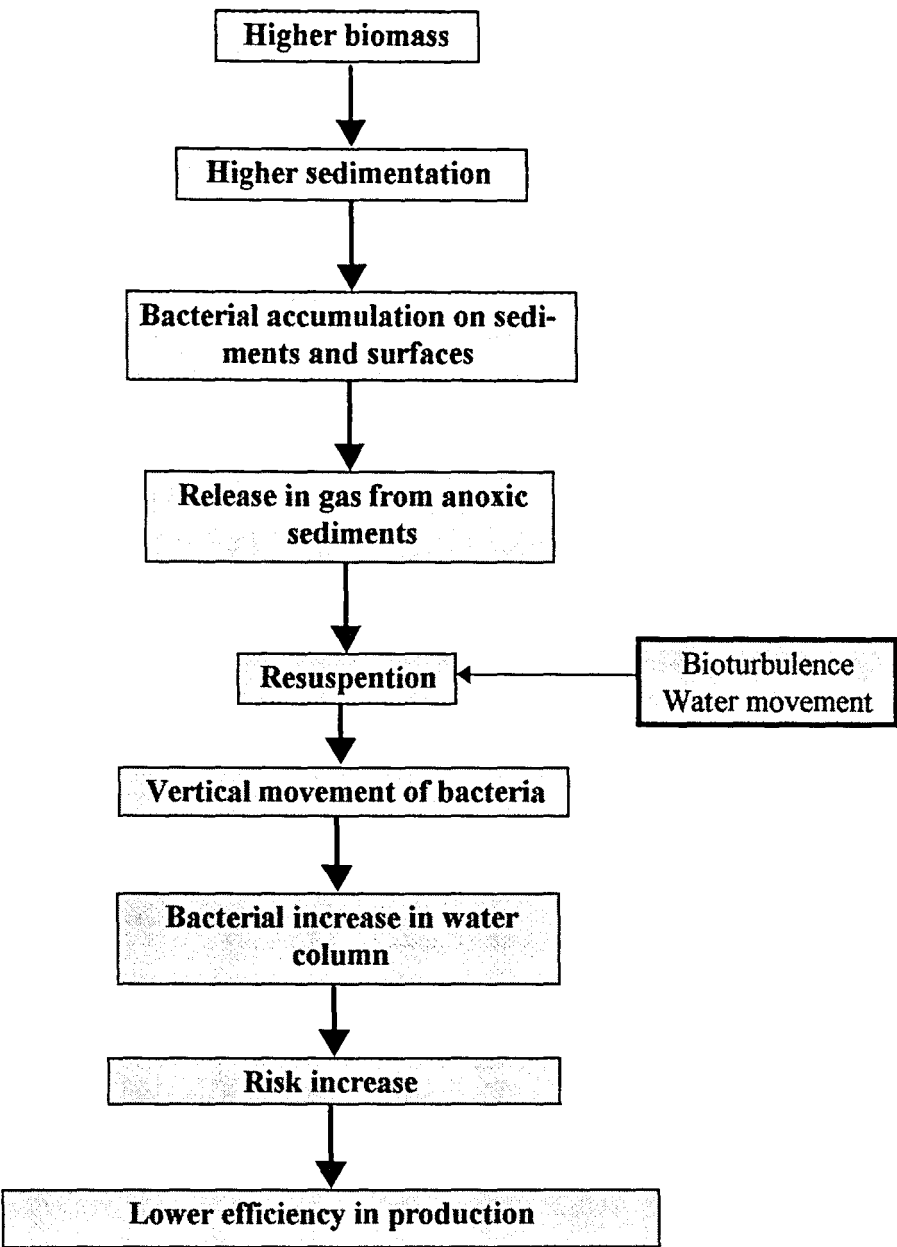
Bacteria that developed on TCBS demonstrated good relationships between abundance, fish biomass and the environmental condition, especially that in sediments. Bacterial concentrations correlated over both the short and long term with biomass changes but did not change abruptly when antibiotics were used or when temperature changed (both studies were conducted in spring, summer and autumn). *Vibrio* bacteria are one of the most important bacterial

representants in the faecal pellets of coastal fish, including salmonids. The correlation observed can be explained because *Vibrio* is a facultative anaerobic bacteria that can be selected for in the anoxic part of the fish intestine. When liberated, fish faeces sediment out before slowly dissolving on sediments. Sediments are usually anoxic beneath cages, serving as an ideal environment for *Vibrio*. These sediment conditions are characteristic of sub-optimal management of farms, indicating a substantial loss of feed pellets or diets with low digestibility. The *Vibrio* concentration is related to the amount of biomass under culture as well as environmental condition, especially that on the sediments.

Other microecological aspects related to the production and the environment were investigated and showed the following:

1. Shortly after feeding a significant increase on bacterial concentration in the water column was measured. The increase is produced by saprophytic bacteria and mainly by Enterobacteriaceae.
2. Bacterial concentrations measured in the water/air interface were ten to one thousand times higher than in the deeper layers. Bacteria grown on TCBS and ENDO-C were not more abundant in the water/air layer than in the deeper ones. The mixture of interface bacteria in deeper layers cannot explain the increase of bacteria observed after feeding because their numbers also increased in the Neuston at this time.
3. The concentration increase can be mainly explained due to mechanical forces caused by frenzied swimming by fish, which releases bacteria attached to fish surfaces nets, and other floating structures of the cage-farm.
4. The bacterial concentration increase after feeding is not caused by release from faecal pellets since these sediment rapidly and entirely. The pellets were observed even some hours after being released.

A second aspect of this investigation considered the importance of vertical transport systems of bacteria from sediments. Enriched organic sediments continuously produce gas. In so doing they offer an adequate lifting-system to hydrophobic bacteria from sediments which can thus reach other surfaces (i.e. fish, Neuston, nets). The hydrophobic nature of these bacteria is closely related to their pathogenicity, which constitutes an extra risk factor in badly-managed farms. In short, the risks of a higher production, with a poor management can be clearly stated by the following schema:



The results of the present study show clearly that the concentration of bacteria that develops on the selective TCBS Media (principally *Vibrio*) reflects the biomass contained within the farm as well as the management efficiency. It can thus be used as an indicator to assess the effect on water and especially sediment condition near intensive culture rearing units located in coastal environments.

8 Literaturverzeichnis

- Ackefors, H. & Enell, M. (1990). Discharge of nutrients from Swedish fish farming to adjacent sea areas. *Ambio*, 19 (1): 28-35.
- Ackefors, H. & Enell, M. (1994). The release of nutrients and organic matter from aquaculture systems in Nordic countries. *Journal of Applied Ichthyology*, 10 (4): 225-241.
- Andrushaitis, G., (1983). Biological Monitoring of the Baltic Sea according to microbiological indicators. In: Symposium on Ecological Investigations of the Baltic Sea Environments. Riga, UdSSR, 16.-19. März 1983: 204-208.
- Angel, D., Krost, P., Zuber, D., Mozes, N. & Neori, A. (1995). The turnover of organic matter in hypertrophic sediments below a floating fish farm in the oligotrophic Gulf of Eilat (Aqaba). In: Japanese-Israelian Symposium on Aquaculture. *Israelian Journal of Aquaculture (Bammitgea)*, 44 (4): 143-144.
- Angles, M., Marshall, K. & Goodman, A. (1993). Plasmid transfer between marine bacteria in the aqueous phase and biofilms in reactor microcosms. *Applied and Environmental Microbiology*, 59 (3): 843-850.
- American Public Health Association (APHA) (1975). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 14. Auflage. New York.
- Arzul, G., Clément, A. & Pinier, A. (1996). Effects on phytoplankton growth of dissolved substances produced by fish farming. *Aquatic Living Resources*, 9: 95-102.
- Atherr, M. & Kasweck, K. (1982). In situ studies with membrane diffusion chambers of antibiotic resistance transfer in *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 44: 838-843.
- Austin, B. (1982). Taxonomy of bacteria isolated from a coastal, marine fish-rearing unit. *Journal of Applied Bacteriology*, 53: 253-268.
- Austin, B. (1983). Bacterial microflora associated with a coastal, marine fish-rearing unit. *Journal of the Marine Biology Association of the United Kingdom*, 63: 585-592.
- Austin, B. (1985). Antibiotic pollution from fish farms: Effects on aquatic microflora. *Microbiological Sciences*, 4 (2): 113-117.
- Austin, B. & Austin, D. (1985). Microbial quality of water in intensive fish rearing. *Journal of Applied Bacteriology (Symposium supplement)*: 207-226.

- Austin, B. & Austin, D. (1987). Bacterial fish pathogens. Disease in farmed and wild fish. Ellis Horwood Ltd., Chichester, England: 364p.
- Austin, B. & Al-Zahrani, M.J. (1988). The effect of antimicrobial compounds on the gastrointestinal microflora of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. Journal of Fish Biology, 33: 1-14.
- Austin, B. & Austin, D. (1989). Methods for the Microbiological Examination of Fish and Shellfish. Ellis Horwood Ltd., Chichester, England: 317p.
- Austin, B. & Austin, D. (1993). Bacterial Fish Pathogens. Disease in Farmed and Wild Fish. 2. Auflage. Ellis Horwood Ltd., Chichester, England: 384p.
- Bachor, A. (1990). Räumliche und zeitliche Veränderungen ausgewählter hydrogra-phisch-chemischer Parameter in den Küstengewässern der DDR. Wissenschaftliche Zeitschrift der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald: 29-34.
- Balz, D.M. (1991). Introduced fishes in marine systems and inland seas. Biological Conservation, 56: 151-177.
- Bauer, A.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C. & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. The American Journal of Clinical Pathology, 36 (3): 1966.
- Baya, A.M., Brayton, P.R., Brown, V.L., Grimes, D.J., Russek-Cohen, E. & Collwell, R.R. (1986). Coincident plasmids and antimicrobial resistance in marine bacteria isolated from polluted and unpolluted atlantic ocean samples. Applied and Environmental Microbiology, 51 (6): 1285-1292.
- Beveridge, M. (1987). Cage Aquaculture. Fishing News Book Ltd., England: 352p.
- Beveridge, M. (1996). Cage Aquaculture. 2. Auflage. Fishing News Book Ltd., England: 346p.
- Beveridge, M., Ross, L. & Kelly, L. (1994). Aquaculture and biodiversity. Ambio, 8 (23): 497-502.
- Bøvre, K. & Hagien, N. (1981). The Familiy Neisseriaceae: Rod-shaped Species of the Genera *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Kingella*, and *Neisseria*, and the Branhamella Group of Cocci. In: M. Starr, H. Stolp, H. Trüper, A. Balows & H.A. Schlegel (eds.), The Prokaryotes. A handbook on habitats, isolation and identification of bacteria. Springer Verlag, Berlin. Kapitel 122: 1506-1529.
- Branson, E. (1993). Basic anatomy and physiology. In: L. Brown (ed.), Aquaculture for veterinarians. Fish husbandry and medicine. Pergamon Press Ltd., Oxford: 1-30.

- Brenner, D.J. (1981). Introduction to the family Enterobacteriaceae. In: M. Starr, H. Stolp, H. Trüper, A. Balows & H.A. Schlegel (eds.), The Prokaryotes. A handbook on habitats, isolation and identification of bacteria. Springer Verlag, Berlin. Kapitel 88: 1105-1127.
- Brown, A.W. (1991). Evaluación bacteriológica del impacto ambiental producido por el cultivo de salmón del Pacífico (*Oncorhynchus kisutch*) en el Lago Ranco. Tesis de Grado, Escuela de Biología Marina, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia: 72p.
- Brown, J.R., Gowen, R.J. & McLusky, D.S. (1987). The effect of salmon farming on the benthos of a Scottish sea loch. Journal of Marine Biology and Ecology, 109: 39-51.
- Boujard, T., Gelineau, A. & Corraze, G. (1995). Time of a single meal influences growth performance in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Research, 26: 341-349.
- Cairns, J. & Van Der Schalie, W.H. (1980). Biological monitoring: Part I - Early warning systems. Water Research, 14: 1179-1196.
- Campos, H., Steffen, W., Agüero, G., Parra, O. & Zuñiga, L., 1992. Limnology of Lake Ranco (Chile). Limnologica, (22) 4: 337-353.
- Carli, A., Pane, L., Casareto, L., Bertone, S. & Pruzzo, C. (1993). Occurrence of *Vibrio alginolyticus* in Ligurian coast rock pools (Tyrrhenian Sea, Italy) and its association with the copepod *Tigriopus fulvus* (Fisher 1860). Applied and Environmental Microbiology, 59 (6): 1960-1962.
- Carr, O.J. & Goulder, R. (1990). Fish farm effluents in rivers: I. Effects on bacterial populations and alkaline phosphatase activity. Water Research, 24 (5): 63-68.
- Cipriano, R.D., Ford, L.A., Teska, J.D. & Hale, L.E. (1992). Detection of *Aeromonas salmonicida* in the mucus of Salmonid fishes. Journal of Aquatic Animal Health, 4: 114-118.
- Collins, R. (1993). Principles of disease diagnosis. In: Brown, L. (ed.), Aquaculture for veterinarians. Fish husbandry and medicine. Pergamon Press Ltd., Oxford: 69-90.
- Colwell, R.R. (1962). The bacterial flora of Puget Sound fish. Journal of Applied Bacteriology, 25: 147-158.
- Colwell, R.R., MacDonell, M.T. & De Ley, J. (1986). Proposal to recognize the family Aeromonadaceae fam. nov. International Journal of systematic Bacteriology, 36: 473-477.

- Coyne, R., Hiney, M., O'Connor, B., Kerry, J., Cazabon, D. & Smith, P. (1994a). Concentration and persistence of oxytetracycline in sediments under a marine salmon farm. *Aquaculture*, 123: 31-42.
- Coyne, R., Hiney, M. & Smith, P. (1994b). Evidence associating overfeeding on a salmon farm with prolonged half-life of oxytetracycline in under cage sediments. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 14 (6): 207-210.
- Cravedi, J.-P., Choubert, G. & Delous, G. (1987). Digestibility of chloramphenicol, oxolinic acid and oxytetracycline in rainbow trout and influence of these antibiotics on lipid digestibility. *Aquaculture*, 60: 133-141.
- Crowder, A. (1991). Acidification, metals and macrophytes. *Environmental Pollution*, 71: 171-203.
- Dahlbäck, B. & Gunnarsson, L.A.H. (1981). Sedimentation and sulfate reduction under a mussel culture. *Marine Biology*, 63: 269-275.
- Davies, I.M. (1994). Use of chemical analysis of macroalgae in monitoring programmes. OSPAR 1.2., HELCOM 4. Report of the working group on environmental assessment and monitoring strategies. ICES CM 1995 / Env., 5: 20-21.
- Diamond, J.M., Winchester, E.L., Mackler, D.G., Rasnake, W.J., Fanelli, J.K. & Gruber, D. (1992). Toxicology to cobalt in freshwater indicator species as a function of water hardness. *Aquatic Toxicology*, 22 (3): 163-179.
- Doust, J.L, Schmidt, M. & Doust, L.L. (1994). Biological assessment of aquatic pollution: A review, with emphasis on plants as biomonitors. *Biological Review*, 69: 147-186.
- Duff, D.C. (1937). Dissociation in *Bacillus salmonicida*, with special reference to the appearance of a G form of culture. *Journal of Bacteriology*, 34: 49-67.
- Duis, K., Inglis, V., Beveridge, M.C.M. & Hammer, C. (1995). Leaching of four different antibacterials from oil- and alginate-coated fish-feed pellets. *Aquaculture Research*, 26 (8): 549-556.
- Dutka, J. & Rao, S. (1980). Microbiological surveillance, parameters and philosophy. Proceedings of the First Surveillance Symposium, 22nd Conference on Great Lakes Research, Rochester, New York, Mai 1979. Canadian Technical Reports on Fisheries and Aquatic Science, 976: 33-58.
- Dyer, F.E. (1947). Microorganisms from Atlantic cod. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 7: 128-136.
- Eddy, F. (1981). Effects of stress on osmotic and ionic regulation in fish. In: A. Pickering (ed.), *Stress and Fish*. Academic Press, London. Kapitel 4: 77-102.

- Enger, Ø. (1992). Microbial ecology of marine fish farms, with special emphasis on the fish pathogenic bacteria *Vibrio salmonicida* and *Aeromonas salmonicida*. Thesis *Doctor scientiarum*. Department of Microbiology and Plant Physiology, University of Bergen, Norwegen: 45p.
- Enger, Ø., Husevag, B. & Goksoyr, J. (1989). Presence of the fish pathogen *Vibrio salmonicida* in fish farm sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 55 (11): 2815-2818.
- Enger, Ø. & Thorsen, B. (1992). Possible ecological implications of the high cell surface hydrophobicity of the fish pathogen *Aeromonas salmonicida*. *Canadian Journal of Microbiology*, 38: 1048-1052.
- FAO - WWW (1996). URL = <http://www.fao.org>
- Farmer III, J.J. & Brenner, D.J. (1977). Concepts of a bacterial species: importance to writers of microbiological standards for water. In: A.W. Hoadley & B.J. Dutka (eds.), *Bacterial indicators / health hazards associated with water*. Philadelphia, ASTM, STP 635: 37-47.
- Findlay, R.H., Trexler, M.B. & White, D.C. (1990). Response of a benthic microbial community to biotic disturbance. *Marine Ecology Progress Series*, 61: 135-148.
- Findlay, R.H., Watling, L. & Mayer, L.M. (1995). Environmental impact of salmon Net-Pen culture on Marine benthic communities: A case study. *Estuaries* 1A No., 18:145-179.
- Folke, C., Kautsky, N. & Troell, M. (1994). The costs of eutrophication from salmon farming: Implications for policy. *Journal of Environmental Management*, 40: 173-182.
- Forth, W., Henschler, D. & Rummel, W. (1977). *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 2. erweiterte und überarbeitete Auflage. Bibliographisches Institut Mannheim/Wien/Zürch, 672p.
- Fritsche, W. (1990). *Mikrobiologie*. Gustav Fischer Verlag, Bad Langensalza, Deutschland: 497p.
- Gavine, F.M., Phillips, M.J. & Murray, A. (1995). Influence of improved feed quality and food conversion ratios on phosphorus loadings from cage culture of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), in freshwater lakes. *Aquaculture Research*, 26: 483-495.
- GESAMP, Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection, 1996. Monitoring the ecological effects of coastal aquaculture wastes. *GESAMP Reports and Studies*, No. 57: 38p.

- Gibbons, N.E. (1934). The slime and intestinal flora of some marine fishes. Contributions to Canadian Biology and Fisheries, 8: 275-290.
- Gilmour, A. (1977). Characteristics of marine *Vibrios* isolated from fish farm tanks. Aquaculture, 11: 51-62.
- Gowen, R.J. (1994). Managing eutrophication associated with aquaculture development. Journal of Applied Ichthyology, 4 (10): 242-257.
- Grant, A. 1993. Basic husbandry on fish farms. In: L. Brown (ed.), Aquaculture for veterinarians. Fish husbandry and medicine. Pergamon Press Ltd., Oxford: 31-42.
- Grisez, I., Ceusters, R. & Ollevier, F. (1990). The use of API-20E for the identification of *Vibrio anguillarum* and *V. ordalii*. In: Bacterial Diseases of Fish. International Science Conference, University of Stirling.
- Grimont, P. & Grimont, F. (1981). The Genus *Serratia*. In: M. Starr, H. Stolp, H. Trüper, A. Balows & H.A. Schlegel (eds.), The Prokaryotes. A handbook on habitats, isolation and identification of bacteria. Springer Verlag, Berlin, Kapitel 97: 1187-1203.
- Hall, P.O., Anderson, L.G., Holby, O., Kollberg, S., Samuelsson, M.-O. (1990). Chemical Fluxes and mass balances in a marine fish cage farm. I. Carbon. Marine Ecology: Progress Series, 61: 61-73.
- Hanekamp, M., persönliche Mitteilung: Metesldorfer Weg 9, 23966 Karow, Deutschland.
- Hansen, P.K., Lunestad, B.J. & Samuelsen, O.B. (1993). Effects of oxytetracycline, oxolinic acid, and flumequine on bacteria in an artificial marine fish farm sediment. Canadian Journal of Microbiology, 39: 1307-1312.
- Henderson, A.R. & Ross, D.J. (1995). Use of macrobenthic infaunal communities in the monitoring and control of the impact of marine cage fish farming. Aquaculture Research, 26: 659-678.
- Hertz, J. (1991). Bioindicators for monitoring heavy metals in the environment. In: M. Ernest (ed.), Met. Their Compd. Environment, 221-231.
- Hevia, M. (1995). Ein Simulationsmodell zum Einfluß intensiver Lachszucht auf die Umwelt und Auswirkungen standortbedingter Umweltparameter auf das Wachstum des atlantischen Lachses (*Salmo salar* L.) an der Küste Chiles. Dissertation, Mathematisch-Naturwissenschaftl. Fakultät, Christian-Albrechts-Universität Kiel, 225p.
- Holliman, A. (1993). The veterinary approach to trout. In: L. Brown (ed.), Aquaculture for veterinarians. Fish husbandry and medicine. Pergamon Press Ltd., Oxford: 223-248.

- Hoppe, H.-G. (1983). Significance of exoenzymatic activities in the ecology of brackish water: measurement by means of methylumbelliferyl-substrates. *Marine Ecology: Progress Series*, 11: 299-309.
- Hoppe, H.-G. persönliche Mitteilung: Institut für Meereskunde an der Christian-Albrechts-Universität Kiel, Düsternbrooker Weg 20, 24105 Kiel, Deutschland.
- Husevåg, B., Lunestad, B., Johannessen, P., Enger, Ø. & Samuelsen, O. (1991). Simultaneous occurrence of *Vibrio salmonicida* and antibiotic-resistant bacteria in sediments at abandoned aquaculture sites. *Journal of Fish Diseases*, 14: 631-640.
- Inglis, V., Roberts, R. & Bromage, N.R. (1993). *Bacterial diseases of fish*. Blackwell Scientific Publications, Oxford: 312p.
- International Council for the Exploration of the Sea (ICES) (1994). Chemical used in Mariculture. ICES Working group environmental interactions of mariculture. Compiled by: D.J Alderman, H. Rosenthal, P. Smith, J. Stewart & D. Weston. Cooperative Report N. 202: 100p.
- International Council for the Exploration of the Sea (ICES) (1995a). Report of the working group on environmental assessment and monitoring strategies. ICES CM 1995 / Env. 5, Ref.: E. Aberdeen, Schottland, U.K. 27.-31. März 1995: 62p.
- International Council for the Exploration of the Sea (ICES) (1995b). Report of the working group on marine sediments in relation to pollution. ICES CM 1995 / Env. 4, Ref.: E. Aberdeen, Schottland, U.K. 27.-31. März 1995: 38p.
- Jansen, W., Dr., persönliche Mitteilung: Landesforschungsanstalt für Landwirtschaft und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern, Institut für Fischerei. An der Jägerbäk 2, 18069 Rostock, Deutschland.
- Jansen, W., Rosenthal, H., Anders, E., Chrzan, T. & Krost, P. (1993). Umweltaspekte der Aquakultur an der deutschen Ostseeküste. *Arbeiten des Deutschen Fischerei-verbandes*, 57: 127-146.
- Jaramillo, E. & Pino, M. (1993). Bases ecológicas para el desarrollo sostenido de los cultivos de salmones en Bahía Ilque, Seno de Reloncaví. Convenio de Investigación, Patagonia Salmon Farming, Universidad Austral de Chile, Instituto de Zoología, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile, August 1993: 26 p.
- Johannessen, P.J., Botnen, H.B. & Tvedten, Ø. (1994). Macrobenthos: before, during and after a fish farm. *Aquaculture and fisheries management*. 25: 55-66.
- Josuweit, H. (1995). Impact of aquaculture production on market prices. *FAO, Aquaculture Letters*, April (9): 5-7

- Kämpfer, P. (1996). Klassische Methoden zur Charakterisierung und Identifizierung von Abwasserbakterien. In: H. Lemmer, T. Griebe & H.-C. Flemming, (eds.), Ökologie der Abwasserorganismen. Springer Verlag, Berlin: 313p.
- Kaneko, T. & Colwell, R.R. (1973). Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay. Journal of Bacteriology, 113: 24-32.
- Kaneko, T. & Colwell, R.R. (1974). Distribution of *Vibrio parahaemolyticus* and related organisms in the Atlantic Ocean off South Carolina and Georgia. Applied Microbiology, 28: 1009-1017.
- Kapetanaki, M., Kerry, J., Hiney, M., O'Brien, C., Coyne, R. & Smith, P. (1995). Emergence, in oxytetracycline-free marine mesocosms, of microorganisms capable of colony formation on oxytetracycline-containing media. Aquaculture, 134: 227-236.
- Kelly, L.A. (1995). Predicting the effect of cages on nutrient status of Scottish freshwater lochs using mass-balance models. Aquaculture Research, 26 (8): 469-477.
- Kerry, J., Hiney, M., Coyne, R., Cazabon, D., NicGabhainn, S. & Smith, P. (1994). Frequency and distribution of resistance to oxytetracycline in microorganisms isolated from marine fish farm sediments following therapeutic use of oxytetracycline. Aquaculture, 123: 43-54.
- Kerry, J., Gilroy, D., Hiney, M., Coyne, R. & Smith, P. (1995a). The effects of harrowing on oxytetracycline resistance in marine sediment microorganisms beneath a salmon farm. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 15 (5): 172-174.
- Kerry, J., Hiney, M., Coyne, R., NicGabhainn, S., Gilroy, D., Cazabon, D. & Smith, P. (1995b). Fish feed as a source of oxytetracycline-resistant bacteria in the sediments under fish farms. Aquaculture, 131: 101-113.
- Kerry, J., Coyne, R., Gilroy, D., Hiney, M. & Smith, P. (1996). Spatial distribution of oxytetracycline and elevated frequencies of oxytetracycline resistance in sediments beneath a marine salmon farm following oxytetracycline therapy. Aquaculture, 145: 31-39.
- Knoesche, R. (1994). Internationales symposium Aquaculture and water management. Fischer und Teichwirtschaft, 10: 395-396.
- Kobayashi, T., Enomoto, S., Sakazaki, R. & Kuwahara, S. (1963). A new selective medium for pathogenic vibrios, TCBS agar (modified Nakanishi's agar). Japanese Journal of Bacteriology, 18: 387-391.
- Krost, P., Chrzan, T., Schomann, H. & Rosenthal, H. (1994). Effects of a floating fish farm in Kiel Fjord on the sediment. Journal of Applied Ichthyology, 10 (4): 353-361.

- Lemaitre, C. & Rubilar, P. (1992). Informe Práctica Profesional, Esucuela de Biología Marina, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. Unveröffentlicher Bericht, 73p.
- Lemmer, H. (1996). Abwasserreinigungsanlagen als aquatisches Biotop. In: H Lemmer, T. Griebel & H.-C. Flemming (eds.), Ökologie der Abwasserorganismen. Springer Verlag, Berlin: 313p.
- Lewis, P.A. & Horning, W.B. (1991). Differences in acute toxicity test results of three reference toxicants on *Daphnia* at two temperatures. Environmental Toxicology and Chemistry, 10 (10): 1351-1358.
- Li, M.F. & Flemming, C. (1967). A proteolytic pseudomonad from skin lesions of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). I. Characteristics of the pathogenic effects and the extracellular proteinase. Canadian Journal of Microbiology, 13: 405-416.
- Li, M.F. & Taxler, G.S. (1971). A proteolytic pseudomonad from skin lesions of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). III. Morphological studies. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 28: 104-105.
- Liston, J. (1957). The occurrence and distribution of bacterial types on flatfish. Journal of Genetic and Microbiology, 16: 205-216.
- LUM-MV (1991). Ministerium für Bau, Landesentwicklung und Umwelt, Mecklenburg-Vorpommern, Gewässergütebericht 1990. Gütezustand der oberirdischen Gewässer, der Küstengewässer und des Grundwassers in Mecklenburg-Vorpommern. Schwerin, 195p.
- LUM-MV (1993). Ministerium für Bau, Landesentwicklung und Umwelt, Mecklenburg-Vorpommern, Gewässergütebericht 1992. Gütezustand der oberirdischen Gewässer, der Küstengewässer und des Grundwassers in Mecklenburg-Vorpommern. Schwerin, 146p.
- LUM-MV (1994). Ministerium für Bau, Landesentwicklung und Umwelt Mecklenburg-Vorpommern, Gewässergütebericht 1993. Gütezustand der oberirdischen Gewässer, der Küstengewässer und des Grundwassers in Mecklenburg-Vorpommern. Schwerin, 170p.
- Marsden, M.W., Fozzard, J.R., Clark, D., McLean, N. & Smith, M.R. (1995). Control of phosphorus inputs to a freshwater lake: a case study. Aquaculture Research, 26: 527-538.
- Matthäus, W. (1993). Salzwassereinbrüche und ihre Bedeutung für die Meeresumwelt der Ostsee. Wasser und Boden, 12: 922-928.
- Mazeaud, M. & Mazeaud, F. (1981). Adrenergic responses to stress in fish. In: A. Pickering (ed.), Stress and Fish. Academic Press. London. Kapitel 3: 49-76.
- Moeller, J.S. & Hansen, I.S. (1994). Hydrographic processes and changes in the Baltic Sea. Dana, 10: 87-104.

- Morimura, S. (1993). Influences of the environment on fish farming. Fish Farming Technology, Report, 155-161.
- Mortimer, C. (1987). Chemie. Das Basiswissen der Chemie mit Übungsaufgaben. 5. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 660p.
- Mühlhauser, H., Peñaloza, R., Castro, H., Díaz, P. & Muñoz, J. (1993). Producción secundaria bacteriana relacionada con cultivo de salmón en jaula en ambiente marino y lacustre de la isla de Chiloé, X Región, Chile. Revista de Biología Marina, Valparaíso, 28 (2): 287-300.
- Muroga, K., Higashi, M. & Keitoku, H. (1987). The isolation of intestinal microflora of farmed red seabream (*Pagrus major*) and black seabream (*Acanthopagrus schlegeli*) at larval and juvenile stages. Aquaculture, 65: 79-98.
- Neori, A., Angel, D., Krost, P. & Porter, C. (1991). Algae and water quality. Israel oceanographic limnological research. Biennial report: 65-68.
- Niemi, M. (1985). Fecal indicator bacteria at freshwater rainbow trout (*Salmo gairdneri*) farms. Publications of the water research Institute, National Board of Waters, Finland. 49p.
- Niemi, Å., Skuja, H. & Willén, T. (1970). Phytoplankton from the ojeviken-Tvarminne Area, S. Coast of Finland. Memoranda Societatis pro Fauna et Flora Fennica, 46: 14-28.
- Norkrans, B. (1980). Surface microlayers in aquatic environments. In: M. Alexander (ed.), Advantages in Microbial Ecology, 4: 51-85. Plenum Publ. Corp.
- Nygaard, K., Lunestad, B.T., Hektoen, H., Berge, J.A. & Hormazabal, V. (1992). Resistance to oxytetracycline, oxolinic acid and furazolidone in bacteria from marine sediments. Aquaculture, 104: 31-36.
- Okozumi, M. & Horie, S. (1969). Studies on the bacterial flora in the intestines of various marine fish (in japanisch). Nippon Suisan Gakkaishi, 35: 93-100.
- Oliver, J.D. & Smith, J.E. (1982). Intestinal microflora of deep-sea animals: a taxonomic study. Deep-Sea Research, 29: 785-794.
- Palleroni, N. (1981). Introduction to the Family Pseudomonadaceae. In: M. Starr, H. Stolp, H. Trüper, A. Balows & H.A. Schlegel (eds.), The Prokaryotes. A handbook on habitats, isolation and identification of bacteria. Springer Verlag, Berlin. Kapitel. 58: 655-665.
- Pearson, T.H. & Stanley, S.O. (1979). Comparative measurement of the redox potential of marine sediments as a rapid means of assessing the effect of organic pollution. Marine Biology, 53: 371-379.

- Pielou, E.C. (1966). The measurement of diversity in different types of biological collections. *Journal of Theoretical Ecology*, 13: 131-144.
- Pillay, T.V.R. (1996). The challenges of sustainable aquaculture. *World Aquaculture*, 2 (27): 7-9.
- Poleo, A.B.S. (1992). Temperature as a major factor concerning fish mortality in acidic aluminium-rich waters: Experiments with young stage Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fauna*, 45 (2): 90-99.
- Prena, J. (1987). Untersuchungen am Makrozoobenthos der inneren Wismar-Bucht im Jahre 1986. Diplomarbeit, Universität Rostock, 50p.
- Prena, J. (1990). Zur Struktur und Dynamik des Makrozoobenthos der Wismar-Bucht (westliche Ostsee). Untersuchungen in den Jahren 1985-90. Dissertation Fakultät Biologie, Chemie und Agrarwissenschaft, Universität Rostock, 128p.
- Prena, J. & Gosselck, F. (1989). Das Makrozoobenthos eines hocheutrophierten Küstengewässers. Eine Monitierung der Wismarer Bucht (westliche Ostsee). *Fischerei-Forschung Rostock*, 27: 51-56.
- Prieur, D. (1985). Etude bactériologique des sites de salmoniculture en Bretagne. *Rapp. CNEXO*, 82/2784, 53p.
- Pursell, L., Samuelsen, O.B. & Smith, P. (1995). Reduction in the in-vitro activity of flumequine against *Aeromonas salmonicida* in the presence of the concentrations of Mg and Ca ions found in sea water. *Aquaculture*, 135: 245-255.
- Qin, J., Culver, D.A. & Yu, N., 1995. Effect of organic fertilizer on heterotrophs and autotrophs: implications for water quality management. *Aquaculture Research*, 26: 911-920.
- Reinheimer, G. (1991). *Mikrobiologie der Gewässer*. 5. Überarbeitete Auflage: Fischer Verlag, Jena: 294p.
- Rosenthal, H. (1994). Fish farm effluents and their control in EC countries: summary of a workshop. *Journal of Applied Ichthyology*. Special issue: Proceedings of the workshop on fish farm effluents, 10 (4): 215-224.
- Rosenthal, H., Andjus, R. & Krüner, G. (1981). Daily variations of water quality parameters under intensive culture conditions in a recycling system. *Proceedings of the World Symposium on Aquaculture in Heated Effluents and Recirculation Systems*, Stavanger, Norwegen, 28.-30. Mai 1980: 113-120.
- Rosenthal, H. & Munro, L. (1985). Der aquatische Lebensraum. Umweltbedingungen in natürlichen Gewässern und Aquakulturanlagen. In: R. Roberts (ed.), *Grundlagen der*

- Fischpathologie. Mit einer Einführung in die Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie und Immunologie sowie in den aquatischen Lebensraum der Knochenfische. Schlottfeldt, H.-J. (Übersetzung, Neubearbeitet). Paul Parey, Berlin & Hamburg: 1-22.
- Rosenthal, H., Weston, D., Gowen, R. & Black, E. (1988). Report of the ad hoc study group on "Environmental Impact of Mariculture". International Council for the Exploration of the Sea, März 1988, 154: 83p.
- Rosenthal, H., Jansen, W. & Lauterbach, R. (1994). Aquaculture and the Baltic states: development, constraints and perspectives. In: Conference on Baltic fisheries, Warnemünde, 14.-16. November 1994: 14p.
- Rosenthal, H., Scarratt, D.J., McInerney-Northcott, M. (1995). Aquaculture and the environment. In: A Boghen. (ed.), Cold-Water Aquaculture in Atlantic Canada. Kapitel 12: 451-500.
- Sakai, M., Atsuta, S. & Kobayashi, M. (1989). *Pseudomonas fluorescens* isolated from the diseased rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Kitasato Archives of Experimental Medicine, 62: 157-162.
- Sakata, T., Okabayashi, J. & Kakimoto, D. (1978). Microflora in the digestive tract of marine fish, II. Memoirs of the Faculty of Fisheries, Kogashima University, 27: 73-78.
- Sakazaki, R. & Balows, A. (1981). The genera *Vibrio*, *Plesiomonas*, and *Aeromonas*. In: M. Starr, H. Stolp, H. Trüper, A. Balows & H.A. Schlegel (eds.), The Prokaryotes. A handbook on habitats, isolation and identification of bacteria. Springer Verlag, Berlin, Kapitel 103: 1272-1301.
- Samuelsen, O., Solheim, E. & Lunestad, B. (1991). Fate and microbiological effects of furazolidone in a marine aquacultural sediment. The Science of the Total Environment, 108: 275-283.
- Samuelsen, O., Torsvik, V. & Ervik, A. (1992). Long range changes in oxytetracycline concentration and bacterial resistance towards oxytetracycline in a fish farm sediment after medication. The Science of the Total Environment, 114: 25-36.
- Sandaa, R.-A. (1994). Conjugal transfer of antibiotic resistance genes in marine sediments. Thesis *Doctor scientiarum*. Department of Microbiology, University of Bergen, Norwegen: 59p.
- Sandaa, R.-A., Torsvik, V. & Goksøyr, J. (1992). Transferable drug resistance in bacteria from fish-farm sediments. Canadian Journal of Microbiology, 38: 1061-1065.
- Saunders, R.L. (1995). Salmon Aquaculture: Present status and prospects for the future. In: A. Boghen (ed.), Cold-water Aquaculture in Atlantic Canada. Kapitel 1: 35-81.

- Schlegel, H.G. (1985). Allgemeine Mikrobiologie. 6. überarbeitete Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart: 571p.
- Schlotfeldt, H.-J. (1985). Grundlagen der Fischpathologie. Mit einer Einführung in die Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie und Immunologie sowie in den aquatischen Lebensraum der Knochenfische. R. Roberts (ed.), H.-J. Schlotfeldt (Übersetzung, Neubearbeitet). Paul Parey, Berlin & Hamburg: 407p.
- Schlotfeldt, H.-J. (1996). Synopsis of freshwater aquaculture legislation in Germany since national reunification. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 15 (2): 687-701.
- Schlotfeldt, H.-J. & Kleingeld, D.W. (1996). Fünfzehn Jahre Staatlicher Fischseuchenbekämpfungsdienst in Niedersachsen und Fischgesundheitsdienst: eine Bilanz praxisbezogener Ergebnisse und Hinweise. Tierärztliche Umschau, 51: 694-703.
- Schlotfeldt, H.-J. (Adresse): Staatlicher Fischseuchenbekämpfungsdienst Niedersachsen und Fischgesundheitsdienst. Eintrachtweg 17, 30173 Hannover, Deutschland.
- Sera, H. & Ishida, Y. (1972). Bacterial flora in the digestive tracts of marine fish-III. Nippon Suisan Gakkaishi, 38: 853-858.
- Shireman, J.V. & Cichra, C.E. (1994). Evaluation of aquaculture effluents. Aquaculture, 123: 55-68.
- Sievers, G., Palacios, P., Inostroza, R. & Dölz, H. (1995). Evaluation of the toxicity of 8 insecticides in *Salmo salar* and the in vitro effects against the isopode parasite, *Ceratothoa gaudichaudii*. Aquaculture, 134: 9-16.
- Siewing, R. (1985). Lehrbuch der Zoologie, Band 2, Systematik. 3. Auflage. Fischer Verlag, Stuttgart & New York: 1107p.
- Silvert, W. (1995). Modelling environmental interactions of mariculture. ICES: CM 1995 / R: 6: 10p.
- Simpson, E.H. (1949): Measurement of diversity. Nature, 163: 688.
- Sindermann, C.J. (1993). Disease risks associated with importation of non-indigenous marine animals. Marine Fisheries Review, 54: 1-10.
- Smith, P. (1996). Review. Is sediment deposition the dominant fate of oxytetracycline used in marine salmonid farms: a review of available evidence. Aquaculture, 146: 157-169.
- Smith, P., Donlon, J., Coyne, R. & Cazabon, D. (1994a). Fate of oxytetracycline in a freshwater fish farm: influence of effluent treatment systems. Aquaculture, 120: 319-325.

- Smith, P., Hiney, M. & Samuelsen, O. (1994b). Bacterial resistance to antimicrobial agents used in fish farming: a critical evaluation of method and meaning. *Annual Review of Fish Disease*, 4: 271-313.
- Southgate, P. (1993). Disease in aquaculture. In: L. Brown (ed.), *Aquaculture for veterinarians. Fish husbandry and medicine*. Pergamon Press Ltd., Oxford: 91-130.
- Spanggaard, B., Jørgensen, F., Gram, L. & Huss, H. (1993). Antibiotic resistance in bacteria isolated from freshwater and an unpolluted stream in Denmark. *Aquaculture*, 115: 195-207.
- Spellerberg, I.F. (1991). *Monitoring Ecological Change. 1. Ecosystems*. Cambridge University Press, 334p.
- Starr, M., Stolp, H., Trüper, H., Balows, A. & Schlegel, H.A. (eds.), *The Prokaryotes. A handbook on habitats, isolation and identification of bacteria*. Springer Verlag, Berlin: 1102p.
- Sugita, H., Miyajima, C., Iwata, J., Arai, S., Kubo, T., Igarashi, S. & Deguchi, Y. (1988). Intestinal microflora of Japanese coastal fishes. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54: 875-882.
- Swanson, S.M., Rickard, C.P., Freemark, K.E. & MacQuarrie, P. (1991). Testing for pesticide toxicity to aquatic plants: Recommendations for test species. In: J.W. Gorsuch, W.R. Lower, W. Wang & M.A. Lewis (eds.), *Plants for Toxicity Assessment: Second Volume, ASTM STP 1115*. American Society of Testing and Materials, Philadelphia: 77-100.
- Tacon, A., Phillips, M. & Barg, U. (1995). Aquaculture feeds and the environment: the asian experience. *Water Science Technics*, 31 (10): 41-59.
- Talbot, C. & Hole, R. (1994). Fish diets and the control of eutrophication resulting from aquaculture. *Journal of Applied Ichthyology*, 10 (4): 258-270.
- Tilton, R. (1981). The Genus *Alcaligenes*. In: M. Starr, H. Stolp, H. Trüper, A. Balows & H.A. Schlegel (eds.), *The Prokaryotes. A handbook on habitats, isolation and identification of bacteria*. Springer Verlag, Berlin. Kapitel 69: 856-861.
- Torsvik, V., Sorheim, R. & Goksøyr, J. (1988). Antibiotic resistance of bacteria from fish farm sediments. *ICES Report, C. M. 1988 / F:10*.
- Troell, M. (1996). Intensive fish cage farming. Impacts, Resource demands and increased sustainability through integration. Ph.D. Tesis. Department of System Ecology, Stockholm University, Schweden, 29p.
- Turrell, W.R. & Munro, L.S. (1988). A theoretical study of the dispersal of soluble and infectious wastes from farmed atlantic salmon net cages in a hypothetical scottish sea

- loch. International Council for the Exploration of the Sea (ICES), CM 1988/F:36, Mariculture Comitee, 10p.
- Tsutsumi, H., Kikuchi, T., Tanaka, M., Higashi, T., Imasaka, K. & Miyazaki, M. (1991). Benthic faunal succession in a cove organically polluted by fish farming. *Marine Pollution Bulletin*, 23: 233-238.
- Twiddy, D. & Reilly, P. (1995). Occurrence of antibiotic-resistant human pathogens in integrated fish farms. Research Contributions Presented at the 9th. session of the Indo-Pacific Fishery Commission working party on Fish Technology and Marketing. Cochin, Indien, 7.-9. März 1994. FAO Fishery Report No. 514 Supplement: 23-37.
- Udey, L. & Fryer, J. (1978). Immunization of fish with bacterins of *Aeromonas salmonicida*. *Marine Fisheries Review*, 40: 12-17.
- Ullrich, S. (1989). Fischpathogene Bakterien im Wasser und in Fischen der Unterelbe. Diplomarbeit, Universität Kiel: 115p.
- Ullrich, S. (1992). Bakterielle Fischkrankheiten in Untereider und Unterelbe und ihre Beeinflussung durch Umweltfaktoren. Berichte aus dem Institut für Meereskunde an der Christian-Albrechts-Universität Kiel, Nr. 223: 115p.
- Yoshimizu, M. & Kimura, T. (1976). Study of the intestinal microflora of salmonids. *Fish Pathology*, 10: 243-259.
- Warwick, W.F. (1988). Morphological deformities in chironomidae (Diptera) larvae as biological indicators of toxic stress. In: M.S. Evans (ed.), *Toxic Contaminants and Ecosystem Health: A Great Lakes Focus*. John Wiley and Sons, New York: 281-320.
- Wilkens, J.F. (1981). Water quality requirements for intensive aquaculture: a review. In: K. Tiewws (ed.), *Aquaculture in Heated Effluents and Recirculation Systems*. Schriften der Bundesforschungsanstalt für Fischerei, Hamburg, 16/17: 17-37.
- Willén, T. (1979). Phytoplankton as a criterion of water quality. *Acta Botanica Fennica*, 110: 47-52.
- Wrege, Bernd (persönliche Mitteilung): Med. Vet. Patagonia Salmon Farming S.A., Avda. Diego Portales 870, Puerto Montt, Chile.
- Zar, J. (1996). *Biostatistical Analysis*. 3. Auflage. Prentice Hall Intl. Ed. London. 662p.